UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER - TOULOUSE

UNITÉS MÉDICALES

ANNÉE 1970 N° 186

DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DES AFFECTIONS RESPIRATOIRES AIGUES A MYCOPLASMA PNEUMONIAE

THÈSE

pour le Doctorat en Médecine
(DIPLOME D'ETAT)
présentée et soutenue publiquement en octobre 1970

par

Jean-Claude LEFEVRE
Ancien Externe des Hôpitaux

Membres du Jury	Mmes	L. ENJALBERT	Président
	MM.	M. B. LARENG	Assesseurs
		J. MIGUERES	
		J. ALBAREDE	
		A. JOVER	Suppléant

CENTRE D'ÉDITION DE LA FÉDÉRATION DES ÉTUDIANTS DU CORPS DE SANTÉ
Chirurgie Dentaire (A. C. E. C. D. T.) — Médecine (A. C. E. M. T.) — Pharmacie (A. E. P. T.)
22, rue Croix-Baragnon - TOULOUSE - Siège Social : 20, rue Ozenne - Tél. 52.79.98 - C. C. P. Toulouse 956.31

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543906_0008

UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER - TOULOUSE

UNITÉS MÉDICALES

ANNÉE 1970 N° 186

DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DES AFFECTIONS RESPIRATOIRES AIGUES A MYCOPLASMA PNEUMONIAE

THÈSE

pour le Doctorat en Médecine
(DIPLOME D'ETAT)
présentée et soutenue publiquement en octobre 1970

par

Jean-Claude LEFEVRE
Ancien Externe des Hôpitaux

Membres du Jury

Mmes	L. ENJALBERT	Président
	M. B. LARENG	Assesseurs
MM.	J. MIGUERES	Assesseurs
	J. ALBAREDE	Assesseurs
	A. JOVER	Suppléant

CENTRE D'ÉDITION DE LA FÉDÉRATION DES ÉTUDIANTS DU CORPS DE SANTÉ
Chirurgie Dentaire (A. C. E. C. D. T.) — Médecine (A. C. E. M. T.) — Pharmacie (A. E. P. T.)
22, rue Croix-Baragnon - TOULOUSE - Siège Social : 20, rue Ozenne - Tél. 52.79.98 - C. C. P. Toulouse 956.31

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE PAUL SABATIER
118, Route de Narbonne
31 - TOULOUSE

-:-:-:-

T A B L E A U D U P E R S O N N E L

UNITES MEDICALES

Président de l'Université : Monsieur LARENG

Ier Vice-Président : Monsieur MATHIS

Directeur de l'Unité de Sciences Médicales : Monsieur MONNIER
TOULOUSE-PURPAN

Directeur de l'Unité de Sciences Médicales : Monsieur ENJALBERT
TOULOUSE-RANGUEIL

Doyens honoraires : MM. LAZORTHES, GORSE, CALVET, BRUSTIER

Professeurs honoraires : MM. VALLOIS, TAPIE, DELAS, RISER, BUGNARD
VINCENT, MOREL, BOUISSET, CALMETTES,
THOMAS, LAGROT, DULUCQ

-:-:-:-

linique Médicale et Cardiologique	MM. DARDENNE
linique Médicale Sud	GADRAT
linique Chirurgicale	FICAT
linique Chirurgicale A et Gynécologie	POULHES
linique Chirurgicale B et du Cancer	GRIMOUD
linique Chirurgicale infantile et orthopédie	PASQUIE
linique Chirurgicale orthopédique et traumatologique	RIEUNAU
linique de Chirurgie cardio-vasculaire	ENJALBERT
linique des maladies cutanées et syphilitiques	BAZEX
linique des maladies des voies urinaires	LHEZ
linique des maladies infectieuses	ARMENGAUD Max.
linique médicale infantile et puériculture	SOREL
linique médicale de la première enfance	BARDIER
linique de neuro-chirurgie	LAZORTHES G.
linique neurologique et psychiatrique	GERAUD
linique obstétricale	PONTONNIER
linique odonto-stomatologique	CADENAT

- Clinique ophtalmologique	MM.	N.....
- Clinique O.R.L. et Chirurgie maxillo-faciale		CALVET
- Clinique de pneumo-phtisiologie		DELAUDE
- Clinique rhumatologique		RUFFIE René
- Accouchement et obstétricie sociale		MONROZIES
- Anatomie		BASTIDE
- Anatomie pathologique		FABRE Jacques
- Anesthésie et Réanimation		LARENG Louis
- Bactériologie et Virologie	Mme	ENJALBERT
- Biophysique médicale A		AUVERGNAT
- Biophysique médicale B		BRU
- Chimie biologique		VALDIGUIE Paul
- Electro-Radiologie		MARQUES
- Embryologie générale		BROUSSY Jean
- Hématologie		RUFFIE Jacques
- Histologie		BIMES
- Hydrologie, Thérapeutique et Climatologie		N.....
- Cardiologie clinique et expérimentale		N.....
- Hygiène et médecine sociale		MONNIER
- Immunologie		DUCOS
- Médecine légale et médecine du travail		PLANQUES
- Pathologie chirurgicale		DAMBRIN
- Pathologie générale et médecine expérimentale		SENDRAIL
- Pathologie médicale		RIBAUT
- Physiologie		LAPORTE Yves
- Physiologie appliquée et pharmacologie		BAISSET
- Sémiologie et clinique médicale		LAPORTE Jacques
- Thérapeutique		DARNAUD

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

- Histologie et Embryologie	MM.	GUILHEM
- Anatomie pathologique		BOUISSOU
- Biochimie médicale		DOUSTE-BLAZY
- Histologie et Embryologie		PLANEL
- Oto-Rhino-Laryngologie		CLAUX
- Pathologie Médicale		BOULARD
- Physiologie		MONTASTRUC
- Physiologie		BESSOU
- Physique médicale		COMMANAY
- Pneumo-Phtisiologie		MIGUERES

PROFESSEURS SANS CHAIRE

- Anatomie pathologique	MM.	FABRE Jean
- Bactériologie, parasitologie, virologie	Mme	LARENG M.B.
- Biochimie médicale		VALDIGUIE Pierre
- Chirurgie générale		GEDEON
- Chirurgie générale		SARRAZIN
- Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire		ESCHAPASSE
- Electro-radiologie		PONS
- Electro-radiologie		ROULLEAU
- Médecine générale et thérapeutique		BOLLINELLI
- Ophtalmologie		DELODATI
- Pédiatrie		DALOUS
- Neuro-chirurgie		ESPAGNO Jacques
- Médecine générale et thérapeutique		SUC
- Pédiatrie		REGNIER
- Médecine générale		RIBET

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

- Carcinologie	MM.	ESTRADE
- Médecine générale et thérapeutique		BES
- Pathologie expérimentale		GLEIZES
- Médecine générale		ARLET Jacques
- Dermatologie, Vénéréologie		DUPRE
- Thérapeutique		DENARD
- Physiologie		GERAL J. Pierre
- Cardiologie		BOUNHOURE
- Thérapeutique, Réanimation médicale, Rééducation fonctionnelle et Hydrologie		SALVADOR
- Radiologie		COMBES Pierre
- Pneumo-Phtisiologie		ALBAREDE J.L.
- Pédiatrie génétique médicale		ROCHICCIOLI P.
- Chirurgie générale		ESCAT Jean
- Chirurgie générale		COSTAGLIOLA
- Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie plastique et reconstructive		UTHEZA Guy
- Urologie		PONTONNIER F.
- Histologie, Embryologie, Cytogénétique		SOLEILHAVOUP
- Biophysique		GUIRAUD Robert
- Physiologie		PAGES Bernard
- Parasitologie		LARROUY
- Immunologie, Hématologie, Maladies du sang		BIERME Robert
- Anatomie et organogénèse		JUSKIEWENSKI S.
- Médecine interne		FEDOU Robert
- Médecine générale		RASCOL

AGREGES

- Médecine générale	MM.	CALAZEL
- Médecine générale		LE TALLEC
- Chirurgie générale		GAUBERT
- Médecine légale		GREZES-RUEFF
- Neurologie et Psychiatrie		GAYRAL
- Ophtalmologie		BEC

AGREGES LIBRES

- Chirurgie générale	MM.	SOUQUET
- Pathologie chirurgicale		DIEULAFE
- Obstétrique		ESPAGNO G.

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

- Psychiatrie	M.	LABOUCARIE

Secrétaire Général de l'Université : Monsieur PRINEAU J.P.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats (délibération en date du 12 Mai 1891).

-:-:-:-:-:-:-

A Frédérique

A la mémoire de mon père

A ma mère

A la mémoire de mon grand-père

A ma grand-mère

A Muriel

A mes soeurs et mon frère

A ma marraine

A ma famille

A mes amis

A notre Maître et Président de Thèse

Madame le Professeur L. ENJALBERT

Professeur de Bactériologie-Virologie
Biologiste des Hôpitaux

Elle nous a fait bénéficier de son enseignement à la Faculté, puis accueilli avec bienveillance dans son service.

Nous sommes très sensible à l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider notre Jury de Thèse

En hommage très respectueux.

A notre Jury de Thèse

Madame le Professeur M.B. LARENG

Professeur de Bactériologie-Virologie
Biologiste des Hôpitaux

Vous avez inspiré ce travail, puis aidé à sa réalisation.

Sachez toute la respectueuse admiration que vous nous inspirez.

En vous assurant de notre dévouement, permettez-nous de vous remercier.

Monsieur le Professeur J. MIGUERES

Professeur de Pneumo-phtisiologie
Médecin des Hôpitaux

Vous nous faites le grand honneur de juger notre Thèse.

Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance et de notre profonde admiration.

Monsieur le Professeur ALBAREDE

Maître de Conférences Agrégé de Pneumo-phtisiologie

Très tôt, vous avez contribué à notre formation médicale par votre enseignement.

Nous vous remercions bien vivement d'avoir accepté d'être notre Juge.

Monsieur le Professeur A. JOVER

Maître de Conférences Délégué de Pneumo-phtisiologie

Au cours de la réalisation de ce travail nous avons bénéficié de l'étendue de vos connaissances et de votre particulière gentillesse.

Permettez-nous de vous exprimer notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Docteur F.B. SOULA

Assistant de Faculté - Assistant des Hôpitaux

Depuis le début de ce travail, vous nous avez chaque jour apporté une aide efficace.

Nous avons pu apprécier votre dynamisme, votre compétence et votre extrême gentillesse.

Soyez assuré de notre profonde amitié.

A Madame le Professeur J. DIDIER

Maître de Conférences Agrégé de Bactériologie-Virologie

Vous avez guidé nos premiers pas en sérologie avec infiniment de bienveillance.

Permettez-nous de vous remercier.

A nos Maîtres de la Faculté et des Hôpitaux

et particulièrement

Monsieur le Professeur J. LAPORTE
Professeur de Clinique Sémeiologique

Votre enseignement à la Faculté est un des souvenirs les plus marquants de notre formation médicale.

Votre grande finesse clinique et votre extrême délicatesse sont à l'hôpital un exemple pour tous.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer notre plus vive reconnaissance et l'assurance de notre respectueuse admiration.

Monsieur le Professeur DOUSTE-BLAZY
Professeur de Biochimie Médicale

Votre exemple, voici quelques années déjà, puis vos conseils toujours bienveillants ont affirmé notre vocation de Biologiste.

Permettez-nous de vous assurer de notre reconnaissance et de notre respectueux attachement.

Monsieur le Professeur G. LARROUY

Maître de Conférences Agrégé de Parasitologie
Biologiste des Hôpitaux

En maintes circonstances nous avons pu apprécier vos nombreuses qualités.

Vous nous avez toujours apporté votre aide avec une grande spontanéité.

Permettez-nous de vous exprimer notre respectueuse gratitude.

Monsieur le Docteur J.P. SEGUELA

Chef de Travaux de Parasitologie
Assistant des Hôpitaux

Dont les encouragements nous ont amicalement soutenu.

Nous remercions tous ceux qui nous ont aidé à mener ce travail à bien, en particulier :

Monsieur le Professeur A. DELAUDE

Monsieur le Professeur J. MIGUERES

Monsieur le Professeur agrégé G. LARROUY

Monsieur le Docteur MONTALEGRE

Grâce à la collaboration desquels nous avons obtenu nos observations et nos sérums.

Madame D. IVARNEZ

Monsieur J. RODRIGUEZ

Qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

P L A N

- INTRODUCTION

- Première partie = Etude de Mycoplasma pneumoniae

  . Chapitre I : Historique

  . Chapitre II : Pouvoir pathogène

  . Chapitre III : Propriétés bactériologiques

  . Chapitre IV : Diagnostic sérologique

- Deuxième partie = Notre travail

  . Chapitre I : Matériel d'étude

    1) Les sérums étudiés

    2) Les techniques utilisées

  . Chapitre II : Exposé des résultats

- Troisième partie = Discussion

  . Chapitre I : Valeur quantitative des techniques utilisées

  . Chapitre II : Valeur qualitative des techniques utilisées

    1) Concordances

    2) Discordances

    3) Commentaires

- CONCLUSION

- BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Au cours des dernières decennies, peu de chapitres de la pathologie ont connu un bouleversement aussi profond que celui des bronchopneumopathies infectieuses.

La mise au point de nouvelles techniques de laboratoire, en particulier dans le domaine de la sérologie, a permis de rapporter à des agents "viraux" de plus en plus nombreux des syndromes dont on n'observait auparavant que les complications. Celles-ci, habituellement de nature bactérienne, ont diminué de fréquence avec les acquisitions thérapeutiques et la généralisation de l'antibiothérapie.

Cependant, à côté des virus proprement dits, interviennent d'autres agents infectieux, s'apparentant aux bactéries, mais dont le pouvoir pathogène est voisin des affections virales. Ce sont essentiellement les Rickettsies et les Mycoplasmes.

Les affections respiratoires aiguës à Mycoplasma pneumoniae (Mp) sont à l'heure actuelle,tout au moins dans certains pays, parmi les plus fréquentes des bronchopneumopathies de type viral.

Le diagnostic biologique des infections à Mp chez l'homme fait surtout appel à la sérologie. L'isolement de l'agent infectieux n'est pas de pratique courante :

- Il exige des techniques nouvelles différentes de celles de la bactériologie et de la virologie.
- Le seul isolement du germe ne signifie pas qu'il est l'agent responsable de la maladie.
- De nombreux diagnostics ont été faits, à posteriori avec des sérume prélevés lors d'enquêtes virales ou bactériologiques.

Notre travail comporte deux principaux chapitres :

1) Etude de Mycoplasma pneumoniae : sans négliger les données historiques et purement bactériologiques, nous insisterons sur son rôle pathogène chez l'homme et sur les principales applications du diagnostic biologique.

2) Notre enquête porte sur 428 sérums que nous avons étudiés :

- par réaction de fixation du complément (FC') à l'aide de l'antigène "B.B.L." ;
- par inhibition de la fermentation du glucose (I.F.G.) dont la technique nous a été obligeamment communiquée par Madame le professeur PEROL (Virologie hôpital Claude Bernard - PARIS).

La comparaison des résultats obtenus tant à TOULOUSE que lors d'enquêtes sérologiques antérieures, permet de préciser la valeur des deux techniques et l'opportunité de leurs indications.

PREMIERE PARTIE

MYCOPLASMA PNEUMONIAE

HISTORIQUE - SON POUVOIR PATHOGENE - SES PROPRIETES BACTERIOLOGIQUES - LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE.

CHAPITRE I : HISTORIQUE

Si les mycoplasmes ont été isolés il y a plus de 70 ans - sous un autre nom - il a fallu très longtemps pour identifier puis classer ceux qui sont pathogènes pour l'homme. Une des raisons des longs délais qui séparent la découverte de "l'Asterococcus mycoïdes", en I898, par NOCARD et ROUX (aujourd'hui Mycoplasma mycoïdes) de celle des autres espèces de mycoplasmes, est la confusion créée par les études effectuées sur les formes "L" des bactéries. On sait à ce jour, que si les "Pleuro Pneumonia Like Organisms" (P.P.L.O.) ont quelques caractères communs avec les mycoplasmes, ils s'en distinguent essentiellement par le fait qu'ils dérivent des bactéries et peuvent se reconvertir en bactéries.

Au cours de la seconde guerre mondiale et des années qui suivirent, de nombreuses recherches furent entreprises pour isoler l'agent pathogène responsable de la "Pneumonie atypique primitive" (P.A.P.) décrite par REIMANN en I938.

En I944, EATON, MEIKLEJOHN et HERICK isolaient sur oeuf embryonné un agent infectieux à partir de prélèvements de gorge effectués sur des malades atteints de pneumonie atypique primitive. Cet agent ne déterminait aucune lésion décelable dans ce milieu, mais quand les broyats d'embryon de poulet ou les liquides embryonnaires étaient inoculés par voie intra-nasale à des rats du coton ou à des hamsters, ces

animaux présentaient souvent des pneumonies. Un résultat identique pouvait être obtenu en inoculant directement le prélèvement humain à ces animaux. Des anticorps neutralisant ce pouvoir pathogène expérimental ont pu être mis en évidence plus souvent chez les sujets présentant une pneumonie atypique s'accompagnant de la présence de cryoagglutinines sériques, que chez des sujets témoins.

Mais, pendant longtemps, l'authenticité de l'agent d'EATON fut mise en doute en raison de l'inconstance des lésions pulmonaires obtenues et de l'impossibilité de passages en série chez les animaux. Les pneumopathies expérimentales d'EATON furent attribuées au réveil de virus latents sous l'influence de l'inoculation.

En I957, LIU confirmait la réalité de l'agent d'EATON en le mettant en évidence, par la technique d'immunofluorescence indirecte de COONS, dans le cytoplasme des cellules épithéliales de l'arbre respiratoire d'embryons de poulet. De même, l'apparition d'anticorps spécifiques put être décelée chez les sujets atteints de pneumonie atypique primitive.

Le rôle pathogène de l'agent d'EATON était ensuite confirmé par :

- l'isolement d'un grand nombre de souches chez des sujets présentant des pneumonies atypiques primitives avec réactions sérologiques positives, à l'inverse du groupe témoin ;
- la reproduction de la maladie chez des volontaires (CHANOCK - I96I)

L'agent d'EATON fut longtemps considéré comme un virus en raison de la filtrabilité puis de la possibilité de le cultiver sur cultures cellulaires (CHANOCK - I960) et ce, malgré des faits discordants, telle l'inhibition de son pouvoir pathogène expérimental par le chlortétracycline (EATON - I950).

Sa véritable nature suspectée en I96I par MARMION et ses collaborateurs et par CLYDE fut confirmée par CHANOCK en I962 qui put cultiver l'agent d'EATON sur un milieu sans cellule vivante. L'étude de ses caractères morphologiques et culturaux a ensuite permis de l'inclure dans le genre "Mycoplasma". La dénomination de "Mycoplasma pneumoniae" fut proposée en I963.

CHAPITRE II - LE POUVOIR PATHOGENE

I - POUVOIR PATHOGENE EXPERIMENTAL

I°) In Vitro : En culture de tissu d'origine aviaire, simienne ou humaine, Mycoplasma Pneumoniae ne provoque pas de destruction cellulaire. On a cependant observé un effet cytolytique retardé sur des cultures de cellules amniotiques humaines, en lignée continue.

- En culture sur cellules rénales de singe, il produit des colonies extracellulaires qui peuvent être observées par immunofluorescence.

- En culture dans l'oeuf embryonné, l'infection inapparente est limitée à l'épithélium bronchique.

2°) In Vivo : Le rat du coton et le hamster sont sensibles à l'infection expérimentale et on observe IO à I4 jours après l'inoculation des lésions pulmonaires macro ou microscopiques. Celles-ci sont péribronchiques et constituées par un infiltrat de cellules mononuclées.

Le pouvoir pathogène de M.p. n'est presque plus utilisé au laboratoire, en dehors de la préparation sur oeuf embryonné des antigènes servant à l'immunofluorescence.

II - POUVOIR PATHOGENE NATUREL

Les manifestations cliniques de l'infection humaine à M.p. diffèrent notablement d'un malade à l'autre. Elles vont de la maladie inapparente à la bronchopneumonie, en passant par des infections fébriles plus ou moins discrètes des voies aériennes supérieures.

I°) Le tableau clinique le plus suggestif est celui du syndrome dénommé par REIMANN "Pneumonie atypique primitive".

- L'incubation est relativement longue (I2 à 2I jours)
- Le début n'a pas la brutalité de la pneumonie bactérienne. Il se manifeste par : . des signes généraux : malaise, courbatures, frisson, et fièvre (38-39).
. des signes fonctionnels : céphalées, toux sèche et opiniatre.
- L'examen apporte peu : on note parfois la présence de rales humides, ronchi et sibillances. Dans d'autres cas, il s'agit d'un foyer limité de rales sous crépitants ou plus humides.
- L'examen radiologique est fondamental. Habituellement, on constate une opacité peu dense "cotonneuse", en général homogène occupant un ou deux segments d'un lobe inférieur. Cet infiltrat est assez caractéristique quand il se localise contre le bord du coeur, formant un triangle à sommet hilaire : "Pneumonie hilifuge" de GLANZMANN. Cependant tout peut se réduire à de simples trainées hilo-diaphragmatiques. Beaucoup plus rarement, d'autres aspects ont été décrits en particulier des atélectasiés et des formes miliaires à gros grains.

- Au point de vue biologique l'infection s'accompagne, classiquement, de l'élaboration d'anticorps particuliers : Hémagglutinines à froid et agglutinines pour le streptocoque MG, qui malheureusement sont absentes dans bon nombre de cas.

- L'évolution est en règle bénigne. Le cours de l'infection peut être très notablement influencé par un traitement par les antibiotiques à large spectre, en particulier par les tétracyclines.

Certaines complications doivent cependant être citées en particulier des hémoptysies, des anémies hémolytiques, des myocardites, des embolies, des surinfections bactériennes.

Il faut aussi insister sur les formes purement radiologiques et les formes inapparentes décelées seulement par la sérologie.

Dans de très rares observations l'évolution est fatale (0,1 à 0,2 % selon DINGLE).

- L'infection respiratoire à M.p. joue un rôle important dans la pathologie pulmonaire.

. 8, 17, 20, 39 % des pneumopathies des communautés militaires américaines (CHANOCK 1961-63 ; FORSYTH 1965 ; GRIFFIN 1965).

. 22 % de 119 cas de "pneumonies" à l'Université du Wisconsin (EVANS 1961)

. 10 à 16 % des bronchopneumopathies aiguës en Grande-Bretagne et en Finlande (GOODBURN 1963) (JANSONN 1964).

2°) Par contre M.p. joue un rôle moindre dans les infections respiratoires extra-pulmonaires.

Il peut être responsable, mais plus rarement :

- d'infections bénignes des voies respiratoires supérieures : rhinites, pharyngites, trachéites.

TABLEAU I

IMPORTANCE DE M.P. DANS LES AFFECTIONS RESPIRATOIRES AIGUES SUIVANT L'AGE

Enquêtes effectuées par réaction de fixation du complément sur des sujets présentant une affection respiratoire aiguë.

AGE (années)	WASHINGTON (1962-1963)	FINLANDE (1962-1963)	SUEDE (1962-1963)	SEATTLE (1963-1964)
0 - 4	1	4	0	6
5 - 9	1	29	33	3
10 - 29	10	27	38	22
30 - 49	1	9	21	18
50 ou plus	4	8	3	0

- d'infections auditives : otites moyennes, myringites bulleuses.

3°) Enfin un certain nombre d'affections ont pu être rapportées par la sérologie à M.p.

- Pleurésies
- Syndrome de Stevens-Johnson
- Méningites et Méningo-encéphalites
- Péricardites
- Erythème noueux
- Erythène polymorphe

Cependant il pourrait s'agir de phénomènes de rappel, survenant au cours d'autres affections et qui expliqueraient les réponses sérologiques observées. De plus la possibilité d'infection mixte, surtout virale, n'est pas à rejeter. Sur I33 cas observés par MUFSON en I96I, I8 associaient un virus, 5 cas deux virus, 1 cas trois virus.

4°) Du point de vue épidémiologique la pneumopathie à M.p. semble ubiquitaire.

- Exceptionnelle chez le nourrisson, elle est rare chez le jeune enfant (sauf pour les auteurs scandinaves), plus fréquente chez l'adolescent et l'adulte jeune. L'âge de prédilection s'étend de IO à 30 ans comme le montre le tableau I.

- Elle évolue suivant un mode endémo-épidémique frappant surtout les collectivités d'adultes jeunes (lycées, casernes). Ainsi COUCH trouve 87 % de cas à sérologie positive chez des détenus et CHANOCK 68 % de cas sur 238 pneumopathies dans des camps militaires.

- On l'observe toute l'année, mais davantage à la fin de l'automne et en hiver.

- Sa contagiosité est faible, la contamination nécessite un contage massif et prolongé. Ainsi sur 38 personnes appartenant à 6 familles dont un membre avait présenté une infection due à M.p., 36 ont eu une élévation du taux d'anticorps spécifiques ; par contre 5 personnes vivant au voisinage immédiat d'une des familles atteintes ont vu leur sérologie demeurer négative (BALASSANIAN I967)

- Certains auteurs ont tenté d'évaluer le taux de sujets sains témoins porteurs d'anticorps.Les chiffres semblent jusqu'ici fort contradictoires. Nous nous attacherons, à propos d'un contrôle sérologique systématique chez IOO donneurs de sang, à préciser cette notion primordiale pour l'interprétation du séro-diagnostic.

CHAPITRE III - PROPRIETES BACTERIOLOGIQUES

I - MORPHOLOGIE ET STRUCTURE

Comme tous les mycoplasmes, c'est une bactérie de très petite taille, ne possédant pas de paroi rigide et non colorable par les colorants usuels.

Les plus petits éléments capables de se reproduire ont une dimension calculée par filtration, se situant entre I25 et 250 mμ c'est-à-dire voisine de celle des Myxo-Virus. Ce sont donc les plus petits êtres vivants capables de se reproduire en dehors de cellules vivantes. La microscopie électronique montre des organismes dont la taille varie dans une même population de 30 à I000 mμ. Ces différences de taille semblent devoir être expliquées par les modifications morphologiques que subissent ces bactéries durant leur croissance. Pour KLIENEBERGER-NOBEL, DIENES, LIEBERMEISTER, et d'autres auteurs, le cycle de reproduction commencerait par une petite particule ("corps élémentaire") qui augmenterait de taille ("large bodies") et se divi-

serait finalement en un grand nombre de petites cellules.

La morphologie et la structure de Mp ont pu être appréciées au microscope électronique. Il s'agit d'éléments généralement sphériques, parfois allongés d'une extrême plasticité en raison de l'absence d'une paroi rigide. Les clichés confirment que les mycoplasmes ne sont entourés que par une fine membrane de 75 à 100 Å d'épaisseur, constituée par trois couches :

- deux couches externes opaques aux électrons et de nature protidique
- une moyenne, de densité moindre et de nature lipidique.

Cette membrane circonscrit un matériel interne constitué par des ribosomes et des filaments d'acide désoxyribonucléique qui sont entremêlés avec les composants cytoplasmiques.

II - CARACTERES CULTURAUX

Mp est l'espèce la plus difficile à cultiver parmi les mycoplasmes qui ont pourtant tous des exigences nutritives assez strictes.

Le milieu de base est constitué par une infusion de coeur de boeuf additionnée de 1 % de peptone, de 5 g/l de NaCl et de 14 g/l de gélose. Ce milieu commercialisé sous le nom de Difco P.P.L.O. Agar devra être enrichi. Le plus souvent, on ajoutera, comme l'a préconisé HAYFLICK, 200 ml/l de sérum de cheval et 100 ml/l d'extrait frais de levure.

Sur ce milieu ajusté à un pH entre 7,6 et 7,8 Mp pousse bien entre 35 et 37°, en atmosphère humide et ceci en aérobiose comme en anaérobiose. Il donne à partir du 6ème jour, des colonies caractéristiques, petites, de 10 à 100 µ de diamètre et visibles seulement au microscope optique. Ce sont des colonies arrondies, granuleuses, à

surface muriforme à centre incrusté dans la gélose. Il n'existe pas de zone périphérique claire, ce qui explique que Mp ne donne pas l'aspect classique en "oeuf sur le plat" observé avec les autres mycoplasmes.

Pour la culture en milieu liquide, on utilise le même milieu sans gélose. La pousse est à peine visible. Un léger trouble est appréciable seulement par comparaison avec un milieu témoin non inoculé.

Les facteurs de croissance nécessaires à la culture de Mp ont été bien étudiés :

. le sérum de cheval apporte les protéines, et le cholestérol. Son analyse a montré qu'il existait une protéine limitante contenant huit acides aminés dont la lysine est le composant prédominant Il s'agit d'une lipoprotéine de poids moléculaire $1.35.10^6$, contenant du cholestérol et des phospholipides. Le facteur lipidique seul ou la protéine seule ne peuvent assurer la croissance des mycoplasmes ; par contre, si les deux facteurs sont reconstitués, la croissance devient possible.

. l'extrait de levure apporte un facteur soluble, thermostable, nécessaire pour le développement de Mp.

III - BIOCHIMIE

1°) Mp fermente un grand nombre de glucides, en particulier le glucose, le xylose, le mannose, le maltose, la dextrine et l'amidon avec production d'acides. Il ne fermente pas la lactose.

L'attaque du milieu liquide glucosé s'accompagne d'une chute rapide du pH objectivée par le virage au jaune du rouge de phénol. Seuls Mp et M fermantans possèdent cette propriété.

2°) Mp diffère des autres mycoplasmes du fait qu'il produit une hémolysine active sur les hématies de cobaye , d'homme, de cheval, de mouton, de lapin. Sur gélose au sang, de cobaye, on observ

une hémolyse complète de type β. Or, les autres espèces de mycoplasmes à l'exception de M.laidlawi donnent une hémolyse partielle de type α. Cette hémolysine, soluble, de faible poids moléculaire est très labile. Sa nature a été récemment élucidée (CLYDE) : il s'agit d'un peroxyde. En ceci elle diffère de toutes les autres hémolysines bactériennes qui sont de nature protéique ou lipidique.

3°) Les hématies depoulet, de cobaye, de rat, de singe peuvent s'adsorber à la surface des colonies de Mp et ce phénomène d'hémadsorption est également caractéristique de cette espèce puisque les autres mycoplasmes ne le provoquent pas.

Les cellules épithéliales de trachée de poulet, de rat, de singe s'adsorbent également sur les colonies de Mp. Cette affinité pour les épithéliums du tractus respiratoire semble devoir être retenue pour expliquer la virulence de l'espèce.

4°) Mp s'individualise par la réduction du chlorure de triphényltétrazolium (T.T.C.) en aérobiose, avec apparition d'une couleur rouge (les autres mycoplasmes ne réduisent le T.T.C. qu'en anaérobiose), et par sa non inhibition par le bleu de méthylène en solution à 0,2 %. Cette propriété est utilisée pour l'isolement de Mp.

IV - SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES ET AUX AGENTS CHIMIQUES

I°) Mp résiste aux sulfamides et à la pénicilline, mais est inhibé par de faibles concentrations de tétracycline par les macrolides et dans un grand nombre de cas par la Kanamycine.

2°) Mp est également résistant à l'acétate de thallium en solution à 1 o/oo, qui est hautement bactériostatique pour les bactéries Gram (-) et les bactéries aérobies sporulées.

V - STRUCTURE ANTIGENIQUE

A - La structure antigénique de Mp est maintenant bien établie : des études récentes ont permis de mettre en évidence huit fractions comportant des protéines, des lipides, et des polysaccharides.

I°) KENNY, le premier, en I965 grâce à une extraction par les solvants organiques montre que les antigènes fixant le C' sont de nature lipidique. Ces antigènes qu'il nomme "L" sont spécifiques d'espèces.

2°) PRESCOTT, SOBESLAVSKY et leurs collaborateurs utilisent des procédés chimiques et physico-chimiques. Le culot d'une culture de Mp est ultra-sonné puis centrifugé. Le sédiment est alors traité chimiquement et huit fractions sont ainsi obtenues :

- une fraction lipidique
- trois fractions protidiques
- quatre fractions polysaccharidiques

Par filtration sur gel de silice G ils achèvent le fractionnement du complexe lipidique et retrouvent ainsi neuf composants distincts. Les trois premiers sont les seuls à montrer une activité sérologique. Ils représentent I9 à 28 % du complexe lipidique total. Ils ne comprennent pas de cholestérol indispensable à la culture du germe, qui est présent dans la fraction six.

Dans une deuxième étape, les mêmes auteurs étudient l'activité sérologique et immunisante des différentes fractions obtenues.

Les trois premiers composants lipidiques qui sont les seuls capables de fixer le C' sont très faiblement immunisants. Par contre, unis à des protéines, ils deviennent modérément ou fortement immunisants.

Les composants polysaccharidiques sont intéressés dans les réactions de précipitation en gel.

Seules, les fractions protéiques montrent une activité dans l'hémagglutination indirecte. Il est, en effet, impossible de sensibiliser les globules rouges tannés avec les différents lipides ou polysaccharides obtenus. Cependant, les trois premiers composants lipidiques réagissent avec les anticorps qui agglutinent les globules rouges tannés bloquant l'hémagglutination indirecte. Par suite, on pense que le composant protéique est responsable de l'adsorption sur les globules rouges tannés tandis que le composant lipidique est à la base de la fixation des anticorps agglutinants.

3°) KENNY, en I968, isole deux fractions lipidiques distinctes actives. Il appelle ces fractions Dpn et Bpn.

La fraction Bpn est minime et possède une faible activité fixant le C'.

La fraction Dpn est le composant principal et contient presque toute l'activité fixant le C'.

Quoi qu'il en soit, il apparaît bien établi que :

- les fractions protéiques détiennent le pouvoir immunogène et sont responsables des phénomènes d'hémadsorption.
- la fraction lipidique fixe le C'.

Par suite, l'utilisation de l'antigène lipidique de KENNY apparaît tout à fait justifiée dans la réaction de F.C' Cependant, il semble détecter moins souvent les faibles titres d'anticorps que l'antigène complet.

B - Il n'existe pas de communauté antigénique entre Mp et les autres espèces de mycoplasmes.

On a pu observer cependant, à titre faible, des réactions

croisées entre Mp et M.hominis I et II. Mais l'adsorption des anti-sérums hétérotypiques par les antigènes de Mp ou inversement l'adsorption d'un sérum anti-Mp par des antigènes hétérotypiques ne modifient en rien le nombre et l'intensité des lignes de précipitation spécifiques de chaque système Antigène-Anticorps obtenues en immuno-diffusion

CHAPITRE IV - DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE DES INFECTIONS A Mp

I - REACTIONS SEROLOGIQUES NON SPECIFIQUES

Les premières tentatives de mise en évidence du rôle de Mp dans le déterminisme d'affections respiratoires ont été basées sur la détection des hémagglutinines froides (H.A.F.).

CLOUGH et RITCH découvraient, en I9I8, la présence d'hémagglutinines froides dans le sang d'un malade atteint de pneumonie, mais il fallut attendre I943 pour que PETERSON, HAM et TURNER démontrent la présence d'hémagglutinines chez les malades atteints de pneumonie atypique primitive. Le sérum de ces patients agglutinait à froid (+ 4° C) leurs propres hématies et celles du groupe O.

D'après ces auteurs, les hémagglutinines froides apparaissent vers le 7e jour et atteignent leur maximum au I5e jour de la maladie pour décroître en 4 mois.

En fait, on s'est aperçu qu'il existait des pneumonies atypiques primitives dues à l'agent d'Eaton, sans cryoagglutinines. D'autre part, des affections aussi différentes que la tuberculose, la rougeole, la mononucléose infectieuse, le paludisme, la syphilis, la cirrhose, peuvent s'accompagner de l'élaboration de ces agglutines. C'est dire le peu de

constance et le peu de spécificité de cette réaction qui ne peut être, au plus, qu'un élément d'orientation diagnostique.

La recherche des agglutinines pour le streptocoque MG a également été préconisée. THOMAS, en I943, montre que 25 % des malades atteints de pneumonie atypique primitive dues à Mp élaborent de tels anticorps. Il s'agit d'une technique trop inconstante pour pouvoir être utilisée même dans un but de dépistage.

Quant à l'hypothèse selon laquelle Mp serait la forme "L" du streptocoque MG, elle a été totalement infirmée (PEROL).

II - REACTIONS SEROLOGIQUES SPECIFIQUES

I°) L'immunofluorescence : la technique utilisée est l'immunofluorescence indirecte qui a été adaptée au diagnostic de la pneumonie atypique primitive pour la première fois par LIU en I957.

Deux sortes d'antigènes peuvent être utilisés :

- le premier constitué par des coupes de poumon et de trachée d'embryons de poulet infectés est d'obtention délicate mais d'excellente sensibilité.
- le second beaucoup plus aisément obtenu est constitué de colonies jeunes de Mp. Cependant les anticorps décelés sont de titre inférieur.

Deux sérums seront obligatoirement prélevés avec un intervalle minimum de sept jours. Le premier "précoce" moins d'une semaine après le début de la maladie, l'autre "tardif" à partir du I5e jour. Le taux maximum est atteint aux alentours de la deuxième ou troisième semaine.

Ainsi qu'il ressort de nombreuses études sérologiques comparées, l'immunofluorescence demeure la méthode la plus sensible. Mais les difficultés d'obtention des antigènes rendent son application difficile et son emploi est encore limité à certains laboratoires spécialisés.

2°) L'immunodiffusion : En I968, CONANT, SOMERSON, SENTERFIT, utilisant la technique d'OUCHTERLONY de double diffusion en gélose, obtiennent des résultats excellents en concordance avec la méthode d'inhibition de réduction du tétrazolium. Jusque-là, ce test de précipitation était considéré comme insuffisamment sensible pour réaliser un titrage d'anticorps. En fait, la sensibilité est conditionnée par la qualité de l'antigène préparé. Comme pour la fluorescence, l'obtention de l'antigène s'avère très difficile. Par contre, l'immunodiffusion est une méthode aisée et rapide.

3°) L'hémagglutination passive ou conditionnée ou indirecte : La réaction d'hémagglutination passive pour le diagnostic sérologique des infections à Mp est basée sur le fait, observé par BOYDEN en I95I, que les hématies de mouton traitées par l'acide tannique adsorbent les antigènes et agglutinent en présence d'un anti-sérum spécifique dont on peut, par dilution, établir le titre en anticorps.

Les travaux de DOWDLE et ROBINSON en I964 et en I967, ceux de TAYLOR et de ROBINSON en I966, établissent la spécificité de la réaction. De plus, ces auteurs sont d'accord pour estimer que l'hémagglutination passive est aussi sensible que la FC' pour le diagnostic des affections récentes et peut-être plus sensible pour la détection d'anticorps pré-existants.

Par contre, SOHIER pense que l'hémagglutination indirecte est beaucoup moins sensible que la F.C'.

De toute façon il semble préférable pour le diagnostic d'utiliser la FC' car la montée des anticorps décelée par l'hémagglutination indirecte est précoce, leur titre vite élevé ce qui rend très aléatoire la mise en évidence d'une ascension sérologique,

donc le diagnostic de certitude d'une affection récente.

Au contraire, l'hémagglutination indirecte devrait être choisie pour déceler l'état de protection, en particulier post-vaccinal.

4°) L'inhibition de l'hémagglutination : En I965, FELDMANN et SUHS démontraient l'existence d'une hémagglutinine dans les cultures vivantes de Mp, active sur les globules rouges de singe Vervet, d'homme, de lapin ou de cobaye. Mais la présence obligatoire de sérum de cheval pour l'obtention de cette agglutination interdisait son utilisation. En I969, JOHN et ses collaborateurs ont démontré l'existence d'une hémagglutination directe et ceci en l'absence de sérum de cheval. A l'heure actuelle, il n'est pas encore possible de juger cette technique car aucune étude n'a été menée en parallèle avec les autres méthodes sérologiques.

5°) Réactions de neutralisation ou d'inhibition de croissance : EATON en I945 avait découvert que la pneumonie atypique primitive s'accompagnait d'une ascension d'anticorps neutralisants spécifiques. De nombreuses techniques d'inhibition de croissance de M.p furent par la suite décrites toutes partant du même principe : la présence d'anticorps neutralisants dans le sérum de sujets infectés par Mp.

a) JENSEN en I963 utilise la propriété spécifique que possède Mp de produire une hémolyse de type β avec des globules rouges de cobaye ou de mouton. La lecture de l'inhibition des colonies est ainsi rendue plus aisée. Mais si cette méthode est très spécifique, elle est longue, de réalisation délicate et, par suite, peu utilisée.

b) CLYDE en I964 décrit une réaction d'inhibition de croissance révélée en milieu solide par des disques de papier filtre imprégnés d'un anti-sérum. Il s'agit d'une méthode très spécifique (il n'y a jamais de réactions croisées entre les différentes espèces de mycoplasmes) et très simple. Malheureusement, elle est peu sensible et ne permet pas une étude quantitative des anticorps sériques.

c) En I966, SENTERFIT et JENSEN utilisent la réduction du triphényl tétrazolium en aérobiose pour mettre au point une technique d'inhibition de croissance facilement applicable en pratique. De plus, ces auteurs insistent sur la grande sensibilité de la méthode, plus particulièrement pour dépister les anticorps présents dans des sérums tardifs. Il s'agit donc d'une technique qui pourra trouver une application importante dans l'appréciation de l'état d'immunité d'un sujet vacciné.

d) Mp fermente comme nous l'avons vu précédemment, un grand nombre de sucres, notamment le glucose avec acidification du milieu, L'adjonction de rouge de phénol objective la chute du pH avec virage au jaune.

En I966, TAYLOR et ROBINSON partant de cette propriété, mettent au point une méthode par laquelle l'inhibition de croissance du germe est révélée par inhibition de la fermentation du glucose. Il s'agit donc d'un test colorimétrique qui permet d'obtenir le titrage d'anticorps sériques, leur présence se traduisant par l'absence de virage de l'indicateur. C'est une méthode qui est beaucoup plus simple à réaliser que les autres techniques d'inhibition de croissance. De plus, elle est,comme de récentes études l'ont montré, très sensible et très spécifique (RYKNER). En effet, des sérums de lapin hyperimmunisés contre les autres mycoplasmes humains n'inhibent pas la fermentation du glucose due à Mp. D'autre part, l'inoculation de Mp à des volontaires a montré l'apparition et la montée des anticorps inhibant la fermentation. Une étude parallèle effectuée avec le test au triphényl tétrazolium montre une parfaite concordance des résultats.

Toutes les méthodes sérologiques décrites jusqu'à présent permettent de déceler et, dans la plupart des cas, de titrer les anticorps dits "protecteurs" et sont donc utilisables non seulement pour le diagnostic mais aussi pour les enquêtes épidémiologiques effectuées dans le but d'apprécier l'état d'immunité ou de réceptivité d'une population. Les anticorps persistent longtemps après l'infection. Il n'en va pas de même pour ceux qui fixent le complément.

6°) Réaction de fixation du C' : c'est essentiellement une réaction utilisable pour le diagnostic. Elle révèle surtout les anticorps dits "d'infection" qui ne persistent dans le sérum que pendant un temps limité.La principale difficulté,ainsi que la suite de cet exposé nous le montrera, a été de préparer des antigènes satisfaisants doués d'une haute antigénicité mais dénués de pouvoir anticomplémentaire. Les travaux de KENNY-GRAYSTON, PRESCOTT, SOBES-LAVSKY avaient fait soupçonner la nature lipidique de l'antigène fixant le C'. PRESCOTT a ensuite démontré qu'il s'agissait d'un phospholipide.

a) Trois types d'antigènes sont utilisés :
- antigènes bruts concentrée
- antigènes purifiés lipidiques
- antigènes complets obtenus par culture sur verre

Les antigènes bruts concentrés : En I962, CHANOCK réussit le premier à cultiver l'agent de EATON sur milieu acellulaire. La souche utilisée est la souche FH, isolée par LIU à partir d'un malade présentant une pneumonie atypique. L'isolement avait été fait sur oeuf embryonné, puis la souche adaptée aux cultures cellulaires est ensuite passée en milieu liquide artificiel. L'antigène concentré est obtenu

par centrifugation. Toutes les préparations sont traitées à 56°C pendans 30'. Cependant, et bien que diluées au 1/8 et au I/I6, elles conservent un certain pouvoir anticomplémentaire (PAC). Il a été possible par la suite de réduire ce pouvoir anticomplémentaire mais CHANOCK lui-même reconnaissait que sa méthode manquait de sensibilité, ne donnant que 80 % des résultats positifs obtenus par l'immunofluorescence.

De nombreux auteurs ont ensuite apporté des modifications à cette technique de base (CLYDE, I963 ; DOWOLE, I964 ; JANSSON, I964 ; SCHIEBLE, I966 ; ENG, I967).

On est ainsi arrivé à obtenir des antigènes totalement dépourvus de pouvoir anticomplémentaire. Toutefois, la méthode restait toujours légèrement moins sensible que l'immunofluorescence, ce qui conduisit KENNY et GRAYSTON à proposer, en I965, un antigène purifié.

Les antigènes purifiés lipidiques : ils sont obtenus par extraction de Mp par des solvants organiques. KENNY propose également un antigène lipidique qu'il obtient à partir de l'antigène brut par extraction soit avec du chloroforme, de l'alcool méthylique et du chlorure de potassium, soit avec de l'alcool éthylique.

EVANS, I966 et OFFENHAVER, I967, apportent quelques variantes.

De nombreuses études comparatives ont été entreprises. Les résultats ne sont pas concordants. Récemment, SOHIER trouve cet antigène purifié moins sensible que l'antigène complet. Mais sa préparation facile, l'absence de tout pouvoir anticomplémentaire et la possibilité de l'utiliser à des dilutions élevées en font un bon réactif dans la pratique courante.

Les antigènes obtenus à partir de culture sur verre :

SOMERSON, en I967,met au point une méthode de culture basée sur l'observation d'une propriété des mycoplasmes qui peuvent adhérer à des surfaces de verre et pousser jusqu'à former une nappe continue de colonies qui ne se détachent pas après des lavages répétés. L'activité de l'antigène est augmentée si l'on détache les colonies de la surface du verre par l'action de la trypsine qui est ensuite neutralisée. SOMERSON comparant cet antigène avec les deux autres le trouve aussi sensible, totalement dépourvu de pouvoir anticomplémentaire et très spécifique.

SOHIER et ses collaborateurs ont également montré que l'antigène complet obtenu ainsi est plus sensible que l'antigène lipidique type KENNY.

De très nombreuses études en particulier celles de GRAYSTON-KENNY en I965 et de SOHIER en I968 ont été menées en vue de comparer les valeurs respectives de ces différents antigènes. Les résultats n'en sont pas toujours concordants. De plus les différences ne sont pas d'une importance telle qu'elles puissent faire rejeter un type d'antigène particulier.

b) Les méthodes utilisées pour la réaction de FC' sont toutes dérivées de la technique de KOLMER. L'emploi de la micro-méthode sur des plaques en matière plastique s'avère économique et pratique. SOHIER utilise, quant à lui, une méthode en tubes.

c) Les anticorps fixant le C" apparaissent vers le 7e jour, et atteignent un titre maximum entre le IOe et le 30e jour. Ils persistent pendant environ trois mois. Puis leur taux diminue nettement. Pourtant DOWDLE (I964) trouve encore des titres significatifs (1/I6) IO mois après le début de la maladie chez des volontaires ayant subi une inoculation. Cette éventualité n'a pas été retrouvée par les autres auteurs.

Dans la pratique courante, la réaction de FC' est simple, sûre, aisément reproductible.

DEUXIEME PARTIE

NOTRE TRAVAIL

CHAPITRE I - NOTRE MATERIEL D'ETUDE

I - LES SERUMS ETUDIES

Nos sérums proviennent du C.H.R. de Toulouse, et plus particulièrement :

- du Centre Régional de Transfusion Sanguine
- des services de Pneumo-phtisiologie de l'Hôpital Purpan

Ces divers échantillons nous ont permis d'effectuer :

I°) Dans un premier temps, l'évaluation de la fréquence des atteintes récentes ou anciennes, dues à M.p. chez IOO donneurs de sang et IOO malades porteurs d'affections respiratoires aiguës. Cette notion mal précisée par les données bibliographiques dont nous avons pris connaissance, nous paraissait capitale pour affirmer l'intérêt du diagnostic biologique.

Nous remercions à cette occasion Monsieur le Professeur Agrégé LARROUY et Monsieur le Docteur MONTALEGRE (C.R.T.S. de Toulouse).

2°) Encouragés par ces résultats, nous avons par la suite réservé aux patients de pneumo-phtisiologie deux techniques de diagnostic sérologique des affections à M.p. : la réaction de FC' et la réaction d'I FG.

L'étude parallèle de 228 sérums par ces méthodes permet :
- d'affirmer et de contrôler par les données de la clinique, la valeur du diagnostic,
- de comparer les deux tests utilisés pour aboutir à des résultats fidèles, précoces et reproductibles.

Ces sérums proviennent des services de pneumo-phtisiologie du Centre Hospitalier de Purpan, et nous tenons à témoigner notre reconnaissance à : Monsieur le Professeur DELAUDE; Monsieur le Professeur MIGUERES, Monsieur le Professeur Agrégé ALBAREDE ; Monsieur le Professeur Agrégé JOVER ; Madame le Docteur CANTEGRIL.

II - LES TECHNIQUES UTILISEES

I°) La réaction de déviation du complément

A) Antigène

Nous avons utilisé l'antigène commercialisé "Mycoplasma pneumoniae CF Antigène FH-LIU" BBL Division of Bioquest - Cockeysville, Maryland.

Le titrage de cet antigène a été effectué avec le sérum de référence positif délivré par le même laboratoire. L'antigène et le sérum sont dilués de 2 en 2 dans du tampon véronal de 1/2 à 1/256. La technique est celle de la réaction de FC' et comprend donc du complément à 2 grosses unités et le mélange hémolytique. Elle se fait en plaques LIMBRO. Chaque dilution de sérum est opposée à cha-

cune des dilutions d'antigène. En commençant toujours par la dilution la plus forte on distribuera par exemple verticalement les dilutions d'antigène et horizontalement les dilutions de sérum.

Le titre d'antigène ou l'unité d'antigène sera la plus forte dilution d'antigène qui fixe encore le complément en présence de la plus forte dilution du sérum.

Le titre d'anticorps ou l'unité d'anticorps sera la plus haute dilution de sérum qui donne encore une FC' avec la dilution optima d'antigène.

B) La technique de la réaction de fixation du complément (FC')

Nous avons utilisé une micro-méthode dérivée de la technique de KOLMER.

(1) Dépistage au 1/8 des sérums à étudier:

a) Préparation des dilutions : Les sérums préalablement décomplémentés sont dilués au 1/8 dans du tampon véronal.

L'antigène est dilué dans le tampon à 2 unités suivant son titre.

L'antigène normal est dilué à la même dilution que l'antigène spécifique

Le sérum positif de référence décomplémenté est dilué à 2 unités suivant son titre.

Le complément à 2 unités 1/4 sera de préférence préparé immédiatement avant son utilisation lorsque les autres réactifs auront été distribués.

b) Distribution : Tous les réactifs préalablement dilués sont distribués sous volume de 0,05 ml avec le même rhéomètre.

Pour chaque sérum, la réaction comporte trois godets :

- un godet : FC' spécifique
- un godet : Témoin sérum
- un godet : FC' antigène normal

La plaque doit porter en outre les témoins communs des réactifs utilisés :

- témoin antigène M.p. pour vérifier que l'antigène n'a pas de PAC.
- témoin Antigène (+) sérum (+) pour vérifier l'activité spécifique de l'antigène
- témoin sérum positif pour écarter un éventuel pouvoir anticomplémentaire
- témoin antigène normal pour éliminer un PAC de celui-ci
- contrôle du C' et témoin du système hémolytique. Ils comprennent deux séries de quatre godets où le C' est utilisé aux dilutions respectives de 2 grosses unités, 1 grosse unité, 1/2 grosse unité, pas de complément. Ce contrôle est capital car il permet de voir si la dilution du complément employée est correcte. D'autre part, la première série de godets étant préparée au début de la réaction et la deuxième série à la fin de celle-ci ; ceci permet de dépister une éventuelle baisse de titre du C'.

A la fin de ce premier temps tous les godets doivent contenir 0,I5 ml. La plaque est alors portée à l'étuve à 37° pendant 1 heure 1/2

c) Pendant l'intervalle de temps libre on prépare le mélange hémolytique. Au bout d'une heure et demie, on le distribue sous volume de 0,I ml toujours avec le même rhéomètre.

Le volume total pour chaque godet est finalement de 0,25 ml.

On laisse la plaque 1/2 heure à l'étuve à 37° puis à + 4° pendant une nuit, la lecture se faisant le lendemain.

Tout sérum franchement positif, c'est-à-dire n'ayant pas subi d'hémolyse ou ayant subi une légère hémolyse mais donnant un culot d'hématies net, sera titre.

(2) Titrage d'un sérum positif au 1/8:

Le sérum est dilué de 2 en 2 à partir du 1/8 et engagé dans la réaction sous le volume de 0,05 ml. La réaction est conduite comme précédemment mais sur les différentes dilutions du sérum.

2°) Technique de titrage des Anticorps spécifiques anti-mycoplasma pneumoniae par inhibition de la fermentation du glucose.

(1) Les sérums :

Après décantation, s'ils doivent être titrés rapidement, ces sérums sont conservés à + 4°C, sinon ils sont stockés à - 20°C. Avant titrage, ils sont décomplémentés par un chauffage d'une 1/2 heure à 56 °C.

(2) Matériel :

Les titrages sont réalisés dans des tubes à hémolyse en verre stérile. Les tubes sont fermés avec des bouchons de silicone et il est absolument nécessaire que les tubes inoculés soient fermés hermétiquement. En l'absence d'une fermeture complète, le virage de l'indicateur de pH ne se produit pas.

Les conditions de stérilité ne sont pas très poussées; on travaille simplement à proximité d'un bec Bunsen. Les pipettes utilisées sont stériles. Les dilutions sont pratiquées grâce à l'emploi d'une auto-pipette manuelle "OXFORD" à laquelle est adapté un embout de plastique dont la stérilité est assurée par exposition aux rayons ultraviolets avant usage.

(3) L'antigène :

a) La souche de référence que nous utilisons est la souche FH isolée par LIU. Nous la devons à l'obligeance de Madame le Professeur Y. PEROL.

La première mise en culture a été faite le 28 avril I966 et depuis cette date, la souche est repiquée toutes les semaines. Un titrage doit toujours précéder toute étude. Il sera effectué suivant la technique décrite dans la thèse de Doctorat en médecine de M. J. LEPORS. En mai I970 nous avons obtenu ainsi un titre de $I.IO^{IO}$.

Le repiquage hebdomadaire se fait en grands tubes de I7 cc en milieu liquide de croissance sans glucose. On réalise une gamme de dilution de IO^{-2} à IO^{-IO} en partant de la dilution IO^{-8} de la semaine précédente.

b) Le milieu de culture utilisé : le milieu de base est une macération de coeur de boeuf additionnée de 1 % de peptone et de 5 o/oo de NaCl selon la formule de NORTON, SMITH et LEBERMAN (I95I) commercialisée par Difco.

Nous utilisons un milieu liquide qui est à base de Bacto PPLO Broth dehydrated W/O CV (Difco) que l'on met en solution à raison de 2I grs dans 970 ml d'eau distillée fraiche. On ajoute I4,3 ml de la solution mère d'acétate de Thallium à 5 % et 20 ml d'une solution de rouge de phénol. Le pH est ajusté entre 7,8 et 8 et on répartit en flacons que l'on autoclave I5' à I2I°C. Le tout est conservé à + 4°C.

Au moment de l'emploi nous ajoutons stérilement :

- 20 % de sérum de cheval non décomplémenté
- IO % d'extrait de levure à 25 %
- 1 % de solution mère de pénicilline (contenant I.000.000 U/cm3).

A ce milieu de croissance, on ajoute extemporanément le glucose quand on désire un "milieu complet". Nous utilisons des ampoules de 5 ml à la concentration de 1 %.

Préparation des produits ajoutés au milieu de base :

- Acétate de Thallium : il est utilisé à la concentration finale de I/2000, c'est-à-dire 0,5 mg/cc de milieu final. La solution mère est I00 fois plus concentrée et préparée en mettent 5 g dans I00 cc d'eau distillée. Il est conservé à + 4°C.

- Extrait de levure : 250 g de "Bacto Yeast Extract" (Difco) sont dissous dans I000 ml d'eau distillée par chauffage jusqu'à ébullition ; on obtient ainsi une solution brune dont le pH est ajusté à 8 avec de la soude. On la répartit en échantillons qui sont autoclavés I5' à I2I°C puis conservés à - 20°C.

- Pénicilline : la concentration finale est, suivant les auteurs, de I000 U à 2000 U/cc de milieu. La solution mère est I000 fois concentrée, contenant I.000.000 U/cc préparé stérilement. 0,1 cc de la solution mère (soit I00.000 U) est ajouté chaque fois que l'on prépare I0 cc de milieu pour réaliser une concentration de I000 U/cc. Elle est stockée à - 20°C mais conservée à - 4°C quand on doit l'utiliser rapidement.

- Sérum de cheval : on utilise en fait du sérum de poulain prélevé aseptiquement. Il nous est fourni par les Laboratoires SORGA. Stérilisé par filtration sur membrane millipore GS 0,22 M puis conservé à - 20°C il n'est pas décomplémenté.

c) Le contrôle de l'identité de cette souche , en tant que Mycoplasma pneumoniae est pratiqué à intervalles réguliers. Outre la fermentation du glucose il s'appuie sur les critères biochimiques et antigéniques suivants :

- La production d'une hémolyse pour les globules rouges humains de groupe O et pour les globules rouges de cobaye est mise en évidence par la technique suivante :

. Les globules sont recueillis stérilement dans une solution d'Alsever après une centrifugation de IO' à 2000 tours/mn, 0,6 ml de culot sont incorporés dans 20 ml de milieu de croissance gélosé fondu et ramené à 45°. Cette gélose au sang (3 ml) est coulée en une couche mince à la surface d'un milieu solide en boite de pétri de 5 cm de diamètre où une dilution de notre souche de référence a été inoculée IO jours auparavant. Les colonies bien isolées et bien développées s'entourent d'une zone d'hémolyse totale et la colonie reste visible par transparence au centre de la plage hémolysée.

. L'inhibition de la croissance de notre souche par un sérum de référence anti Mycoplasma Pneumoniae. Le sérum nous a été délivré par "Microbiological Associates". Il s'agit d'un sérum de lapin hyper-immunisé utilisable dans les réactions d'identification par inhibition de croissance. Non inactivé, lyophilisé, il est à reconstituer avec 1 ml d'eau distillée.

(4) Etude cinétique du virage de l'indicateur de pH en fonction de l'inoculum et du temps d'incubation :

Nous avons reproduit à Toulouse l'expérience de base établie dans le service de l'Hôpital Claude Bernard de Paris :

Une culture de Mp obtenue dans un milieu sans glucose après 7 jours d'incubation à 35°C est diluée de IO en IO de IO^{-2} à IO^{-11} sous volume de IO ml dans une galerie de tubes de I7 ml contenant du milieu complet avec glucose. Les tubes sont capuchonnés puis incubés à 35°C. Le pH de chaque tube est apprécié tous les jours par comparaison avec une gamme, et noté. Cette gamme a été réalisée par nos soins avec le milieu complet addi-

tionné de HCl N jusqu'à obtention des pH 7,9 - 7,7 - 7,5... Les résultats de cette expérience ont fait apparaitre que :

- La baisse de pH est très rapide quand l'inoculum est massif. Elle survient en 48 heures avec des inoculums élevés. Le 4e jour elle est flagrante avec des inoculum de IO^{-8} et IO^{-9} : elle est décelable dès le 4e jour avec un inoculum dilué à IO^{-IO}. Au-delà du 5e jour de culture, elle n'est plus appréciable qu'en tant que phénomène de tout ou rien.

- Le virage de l'indicateur est régulièrement obtenu à la dilution IO^{-IO} ; nous l'avons donc inoculé avec, au moins, une unité fermentative (U.F.G. : Unité fermentant le glucose) c'est-à-dire que notre culture de départ contient au moins $I.IO^{IO}$ UFG dans 1 ml. Dans ces conditions, cette expérience étant régulièrement reproductible, nous obtenons chaque semaine à jour fixe, par inoculation d'un milieu sans glucose, une suspension de Mp de titre élevé et approximativement définie.

(5) Conduite du titrage des sérums par inhibition de la fermentation :

Un nombre déterminé de Mp est déposé dans chaque tube de dilution sérique à considérer en présence d'une quantité constante de milieu complet avec indicateur de pH.

La sérologie est pratiquée à jour fixe, chaque semaine et, par la même occasion, le germe est repiqué pour la semaine suivante dans un milieu de croissance sans glucose. Il faut donc prévoir deux lots de milieux :

- 4 tubes de 9,9 ml de milieu sans glucose pour le repiquage du germe ;
- du milieu complet avec glucose et rouge de phénol réparti dans deux flacons de 50 et 100 ml pour la sérologie, et dans deux tubes à raison de 9 et 9,9 ml pour le contrôle du titre de l'inoculum.

Pour chaque sérum à titrer on dispose d'une galerie de IO tubes à hémolyse stériles. On prévoit de plus :

- une galerie de 5 tubes qui seront des témoins du milieu non inoculé
- une galerie de 5 tubes qui seront des témoins de l'inoculum
- deux galeries de 5 tubes qui servent à contrôler le titre de l'inoculum.

Le milieu complet avec glucose et rouge de phénol du flacon de 50 ml est distribué à raison de :

- 0,8 ml dans les tubes témoins milieux
- 0,2 ml dans les I5 tubes témoins de l'inoculum
- 0,6 ml dans le premier tube de chaque série de IO tubes ; il servira de témoin sérum
- 0,2 ml dans les 9 autres tubes de chaque série.

On procède ensuite aux dilutions sériques : dans les deux premiers tubes de chaque série, on dépose 0,2 ml de sérum à étudier. Le premier tube étant le témoin sérum, à partir du deuxième, on pratique sous volume de 0,2 ml, des dilutions de 2 en 2 qui vont du 1/2 au I/5I2.

L'inoculum est alors préparé en partant de la culture de Mycoplasma Pneumoniae établie la semaine précédente dans un milieu de croissance sans glucose, à la dilution IO^{-8}. On prélèvera 0,1 ml de ce tube où le titre est de l'ordre de $I.IO^{IO}$ UFC/ml et on le dépose dans un des quatre tubes contenant 9,9 ml de milieu de croissance sans glucose ; on obtient ainsi une dilution IO^{-8}. Après avoir agité, on en prélève 0,I ml que l'on dépose dans le deuxième tube pour obtenir une dilution IO^{-4}. En procédant de la même manière, on obtient les dilutions IO^{-6} dans le troisième tube et IO^{-8} dans le quatrième tube. I ml de l'avant dernier tube est inoculé dans le flacon de I00 ml de façon à obtenir une dilution

IO^{-8} qui représente l'inoculum. Cet inoculum contient donc de IOO à IOOO UFG/ml. Il est distribué à raison de :

- 1 ml dans le tube de 9 ml de milieu complet avec glucose pour obtenir la dilution IO^{-9} et 0,1 ml dans le tube de g,g ml de ce même milieu, ce qui donne la dilution IO^{-IO}.
- 0,6 ml dans chacun des cinq tubes témoins de l'inoculum à IO^{-8}.
- 0,8 ml par tube de chaque série de dilution sérique (à l'exception du premier qui est le témoin sérum).

Les dilutions finales de chaque sérum s'étalent donc de 1/8 à 1/2040. Chaque tube contient un volume total de 0,8 ml et a reçu de 60 à 600 UFG.

Parallèlement est réalisé un contrôle du titre de l'inoculum : 0,6 ml des dilutions de l'inoculum IO^{-9} et IO^{-IO} sont respectivement déposés dans les 5 tubes de chaque galerie de contrôle de l'inoculum à IO^{-9} et IO^{-IO}.

Un sérum témoin positif est incorporé à chaque séance de sérologie . Nous utilisons des sérums positifs sélectionnés à haut titre.

Les tubes sont fermés hermétiquement par des bouchons siliconés et, après agitation du portoir à la main, sont placés à l'étuve à 35 °C.

La lecture se fait au 4e jour. Les changements de couleur sont observés dans des conditions normales d'éclairage naturel. Les 5 témoins non inoculés n'ont pas changé de couleur. Les cinq témoins de l'inoculum ont viré au jaune. Le titrage de l'inoculum montre que :

- les 5 tubes inoculés avec 0,6 ml de la dilution IO^{-9} ont régulièrement viré ;
- les 5 tubes inoculés avec 0,6 ml de la dilution IO^{-IO} virent très irrégulièrement

- les témoins sérum de chaque série sont rouges.

La plus grande dilution sérique inhibant le virage de l'indicateur de pH est considérée comme le titre du sérum en anticorps inhibant la croissance du germe révélée par fermentation.

CHAPITRE II - EXPOSE DES RESULTATS

I - Etude comparative par réaction de FC' d'un lot de 100 témoins donneurs de sang prélevés par le C.R.T.S. et de 100 patients hospitalisés dans des services de pneumo-phtisiologie pour des syndromes respiratoires aigûs

1) Taux $< 1/8$

a) C.R.T.S. = 72 sérums = 72 %

b) Pneumologie = 56 sérums - 56 %

2) Taux $\geqslant 1/8$

a) C.R.T.S. = 28 sérums = 28 %

dont 8 sérums $\geqslant 1/32$ = 8 %

b) Pneumologie = 44 sérums - 44 %

dont 17 sérums $\geqslant 1/32$ = 17 %

Les différents résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Titres des sérums	C.R.T.S. (nbre de sérums +	Pneumologie nbre de sérums +
1/8	I3	I5
1/I6	7	I2
I/32	5	9
1/64	3	6
1/I28	0	2

II - Etude parallèle par réactions de FC' et d'I F G de 228 sérums de patients hospitalisés dans les services de pneumo-phtisiologie pour des syndromes respiratoires aigus.

Quelle que soit la technique utilisée, la preuve sérologique de l'affection ne peut être apportée que par l'étude d'au moins deux sérums prélevés à I5 jours d'intervalle.

Nous n'avons donc considéré que IOO sujets, certains ayant même fait l'objet de trois ou quatre prélèvements.

Les résultats consignés sur les tableaux II et III nous ont permis de porter le diagnostic d'affection respiratoire à M.p. chez 32 de ces patients ; le tableau II rassemble les cas qui mettent en évidence une ascension significative du taux des anticorps.

OBSERVATIONS	Fixation du C'		I . F . G .	
	1er sérum	2e sérum	1er sérum	2e
I - A... Hamar	1/32	1/I28	< I/8	
2 - A... Marie	I/32	I/I28	I/I28	
3 - B... Ignace	< I/8	I/I6	I/256	
4 - B... Lahouari	I/32	I/I28	< I/8	
5 - B... Madeleine	I/32	I/64	I/32	
6 - B... Pierre	I/I6	I/64	I/32	
7 - B... Juliette	< I/8	I/I6	< I/8	
8 - B... François	I/8	I/I6	I/I28	
9 - C... Antoine	< I/8	I/I6	< I/8	
IO - C... Anne-Marie	I/8	I/I6	I/32	
II - C.. André	I/I6	I/64	I/8	
I2 - D... Urbain	< I/8	I/I6	I/32	
I3 - D... Pierre	< I/8	I/32	< I/8	
I4 - F... Alice	I/8	I/I28	I/32	
I5 - J... Dominique	< I/8	I/64	< I/8	
I6 - L... André	I/8	I/I6	< I/8	
I7 - L... Victorio	< I/8	I/I6	< I/8	
I8 - N... Gaston	I/8	I/32	< I/8	
I9 - P... Paulette	I/I6	I/32	I/32	
20 - S... Abdelkader	I/32	I/64	I/I28	
2I - S... Pierre	< I/8	I/32	I/I28	
22 - T... Jeanne	I/I6	I/64	< I/8	

TABLEAU II

OBSERVATIONS	Fixation du C'		I . F . G .	
	1er sérum	2e sérum	1er sérum	2e sérum
..... Jean	I/64	I/8	I/256	I/256
.... Remigio	< I/8	< I/8	I/2048	I/I024
.... Elie	< I/8	< I/8	I/5I2	I/64
.... Anna	< I/8	< I/8	I/5I2	I/256
.... Emile	I/I6	I/8	I/256	I/64
...Louis	I/8	I/8	I/5I2	I/64
.... Elisa	< I/8	< I/8	I/I024	I/2048
.... Raoul	I/I28	I/I6	I/2048	I/I28
.... Denis	I/64	I/8	< I/8	< I/8
.... Bernard	< I/8	I/32	< I/8	< I/8
.... Eugène	< I/8	I/8	I/I28	I/5I2

TABLEAU III

TROISIEME PARTIE

DISCUSSION

CHAPITRE I - VALEUR QUANTITATIVE DES TECHNIQUES UTILISEES

I - ETUDE COMPARATIVE PAR REACTION DE FC' DE DONNEURS DE SANG ET DE PATIENTS HOSPITALISES

Les résultats que nous avons obtenus lors de cette enquête systématique montrent, à l'évidence, que les donneurs de sang, pris au hasard ont des taux d'anticorps anti-M.p. nettement inférieurs à ceux des patients hospitalisés pour des affections respiratoires aiguës. C'est ainsi que 72 % d'entre eux ont un titre inférieur à 1/8, contre seulement 56 % de nos malades.

Cette différence de recrutement est d'autant plus notable que l'on considère des taux élevés :

8 % $\geq$ 1/32 parmi les donneurs de sang

I7 % $\geqslant$ 1/32 chez les malades

Encore faut-il remarquer qu'une affection respiratoire aiguë n'est pas une contindication au don du sang et que les sujets dont les sérums atteignent ce titre ont pratiquement tous (7/8) le souvenir d'une "grippe" récente.

Il est à noter d'autre part que le taux d'immunisation de la population de notre région peut se chiffrer aux alentours de 25 %, chiffre qui apparait comparable, compte tenu de l'âge de nos sujets à ceux obtenus dans certaines enquêtes d'auteurs anglo-saxons. Ainsi COOK, en Grande-Bretagne, rapporte les chiffres suivants :

0 % de 0 à 2 ans
I5 % de 3 à I9 ans
40 % de 20 à 29 ans
20 % de 30 à 49 ans
I8 % de 50 à 59 ans
0 % > 60 ans

Par contre, les taux obtenus par LIND en Suède (73 %) et par CHANOCK aux Etats-Unis (6 %) montrent l'extrême variabilité de l'immunisation et iustifient la mise en oeuvre de cette enquête systématique.

Notre technique de dépistage d'affection à M.p. parait donc très valable sur le plan quantitatif et à même de satisfaire le clinicien à la recherche de l'étiologie d'un syndrome pseudo-grippal qui ne fait pas sa preuve.

II - ETUDE DE I00 PAIRES DE SERUMS DE SUJETS HOSPITALISES POUR DES SYNDROMES RESPIRATOIRES AIGUS, PAR REACTIONS DE FC' ET D'IFG.

I°) Les taux que nous avons obtenus nous ont amené à porter le diagnostic d'affection à M.p. dans 32 cas, soit un pourcentage de 32 %.

Ces chiffres apparaissent supérieurs à ceux généralement rapportés en France, mais sont fréquemment retrouvés dans les pays anglo-saxons.

- Par la réaction de FC' S. BOSSHARD en I968, attribue 34,4 % des pneumopathies à M.p.
- En I970, sur II4 malades atteints de syndromes respiratoires aigus, G. RYKNER, par la technique d'IFG, rapporte un taux de IO,5 %.

Sur 243 malades dont le motif d'hospitalisation n'a pas été précisé, M.J. LE PORS trouve 8,2 % d'affections à M.p. par la même méthode.

- Par contre, aux Etats-Unis, en utilisant la réaction de FC', EVANS en I967, sur 2549 étudiants, attribue 5I,7 % des pneumopathies à M.p. et COOPS en I968, trouve 48 % d'affections respiratoires à M.p. sur I38 malades.

Par ailleurs, il nous a paru bon d'évaluer le nombre de sujets ayant présenté une atteinte à Myxo-virus influenzae et para-influenzae.

Sur les 32 sujets chez lesquels nous avions porté le diagnostic d'affection à M.p. 8 présentaient une réaction de Hirst positive, soit 25 %.

Par contre, sur les 68 cas restés négatifs pour M.p. 33 s'avéraient positifs en sérologie grippale, soit 48,5 %.

En considérant les IOO sujets nous obtenons un pourcentage de 4I % de syndromes grippaux. Ce qui montre l'importance de M.p. dans le déterminisme des pneumopathies puisque avec 32 % des cas, il intervient juste après les virus grippaux.

2°) Clinique

Dans 32 cas nous avons porté le diagnostic sérologique d'affection à M.p. Il nous a paru bon de le confronter aux données de la clinique avec l'aide du docteur A. JOVER que nous tenons ici à remercier. Dans tous les cas les résultats étaient concordants.

Du point de vue analytique les signes cliniques les plus fréquemment rencontrés ont été :

- La fièvre : retrouvée dans 28 cas (90 %), elle est exceptionnellement élevée au-dessus de 39 (3 cas) et de survenue habituellement progressive, ce qui permettrait d'orienter le diagnostic (76)

- La toux (20 cas soit 64,5 %) : banale, volontiers quinteuse et opiniâtre au début, voit ses caractères se modifier avec l'évolution de l'affection.

- L'expectoration n'est pas de règle au début ou dans les formes non compliquées ; elle demeure assez fréquente chez nos patients souvent bronchitiques et pour la plupart hospitalisés lors de surinfections, virales ou bactériennes (I6 cas, soit 5I,6 %).

- Les signes physiques en général peu marqués sont lorsqu'ils existent (24 cas, soit 77 %) banaux et peu évocateurs. Il peut s'agir :

. de signes bronchiques,où prédominent les ronchi et les sibillances (I8 cas) ce qui n'est pas pour nous étonner dans les conditions de notre recrutement.

. de signes parenchymateux (4 cas) : rales fins sous-crépitants en foyers lobaires supérieurs, parahilaires ou basaux, que l'on attendait plus souvent pour caractériser la "pneumonie atypique".

. dans une de nos observations, nous avons noté une submatité de la base droite signant le léchage pleural, alors que chez un autre patient c'est un tympanisme de l'hémithorax gauche qui attirait l'attention, au décours d'une tuberculose brutalement évolutive.

- Les signes radiologiques évocateurs dans 26 cas (soit 8I,3 %) ; ils peuvent déjà orienter le diagnostic, qu'il s'agisse de trainées hilo-phréniques (IO cas) ou d'infiltrats nuageux para-hilaires non systématisés (9 cas). Nous avons aussi noté 4 cas de foyers systématisés pseudo-pneumoniques, 2 formes pleurales l'une avec comblement du cul de sac droit, l'autre avec pneumothorax de la grande cavité à gauche associé à de grosses lésions tuberculeuses, enfin une miliaire à gros grains (forme signalée par KREISS).

- L'évolution : en règle générale favorable, elle est, dans notre échantillonnage de patients hospitalisés, volontiers grévée de complications parfois gravissimes. Il était difficile chez des malades au passé pathologique souvent chargé et pouvant présenter des affections concommittantes, bactériennes ou virales de chiffrer exactement le nombre de complications relevant sûrement d'une étiologie mycoplasmique. Aussi n'avons-nous considéré que les cas où le rôle de M.p. paraissait isolé à l'exclusion de tout autre facteur étiologique. C'est ainsi que nous avons pu noter :

. 3 cas d'expectoration hémoptoïque (1 hémoptysie vraie et 2 crachats hémoptoïques)

. 2 épisodes de décompensation respiratoire survenant chez des insuffisants respiratoires chroniques.

. 1 insuffisance respiratoire aiguë chez une malade sans antécédent pulmonaire (voir observation n° I4)

. 1 décompensation cardiaque globale suivie de décès chez un sujet de 68 ans, porteur d'une insuffisance cardiaque évoluée.

Tout comme la grippe, les affections à M.p. peuvent venir compliquer le cours d'une tuberculose pulmonaire (3 cas). Il est à noter que chez Mme C... Anne-Marie, 25 ans, c'est à l'occasion d'un épisode respiratoire aigu, survenant dans le post-partum, qu'a été découverte l'atteinte tuberculeuse. Chez un autre patient, M. D... Pierre, 77 ans, c'est la survenue inopinée d'un pneumothorax et d'une flambée évolutive qui attire l'attention ; la sérologie à M.p. est seule fortement positive et semble prouver le rôle de cette bactérie à l'origine de tels accidents.

Reste un certain nombre de cas où le rôle de M.p. est difficile à apprécier du fait de la découverte simultanée d'une autre étiologie virale (8 cas) ou bactérienne (2 cas).

3°) Rôle des examens d'orientation dans le diagnostic des affections respiratoires à M.p.

Si le diagnostic de certitude ne peut être porté que par l'isolement de M.p. voire par la confrontation des différents résultats sérologiques, d'autres tests permettent de suspecter son rôle à l'origine d'affections respiratoires aiguës.

Il nous a paru bon d'en faire état ici à propos de nos 32 malades.

a) la vitesse de sédimentation est nettement accélérée dans 26 cas (soit 8I,3 %)

b) la numération et formule globulaire : la leucopénie et la tendance à la lympho-monocytose, généralement admises ne sont pas retrouvées de façon constante mais dans 9 cas seulement (soit 28,2 %). Chez I7 malades, la numération et formule s'est avérée normale. Par contre, chez 6 autres patients une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles a été notée (I8,7 %) ce qui peut présager de la fréquence réelle des surinfections bactériennes.

c) des cryoagglutinines ont été retrouvées dans I5 cas.

Cette recherche n'a été demandée par les services de pneumologie que 27 fois. Ce qui donne un pourcentage de 55 %.

On sait depuis les travaux de PETERSON et TURNER (I943) que la présence de cryoagglutinines peut orienter le diagnostic vers une maladie de EATON. Très étudiées par de nombreux auteurs, ces agglutinines ont fait l'objet de multiples discussions sur leur nature, leur spécificité.

On les a décrites chez des individus sains et dans des maladies très diverses : affections hépatiques (cirrhose), troubles de la crase sanguine, anémies hémolytiques, maladie de Raynaud, affections parasitaires (trypanosomoses, leishmanioses, paludisme) et différentes viroses pulmonaires :

Grippe (BOUCHER, CATEIGNE, SOHIER)
Adénoviroses (MUFSON)
Ornithoses (TURIAF)

Dans l'enquête de SUSSMAN en I968 (I29) chez 444 enfants, l'auteur s'est attaché à démontrer que dans les 28 cas où avait été notée la présence de cryoagglutinines aucun n'avait révélé une maladie d'EATON.

En I968, F.B. SOULA, dans une statistique portant sur 200 viroses respiratoires, les retrouve dans I4,5 % des cas, mais se trouve dans l'impossibilité de conclure, n'ayant pas à sa disposition les moyens d'identifier les affections à M.p.

Or, le rôle des Mycoplasmes, parfois en concurrence avec certaines viroses (8 cas d'associations M.p. - Myxovirus dans notre enquête) ne peut pas être nié dans l'étiologie des pneumopathies aiguës de notre région.

Notre chiffre de 55 %, dans les mêmes conditions de recrutement, mais pour des affections certainement dues à M.p.,montre

ainsi toute la valeur de cette recherche, à titre bien sûr d'orientation. Nous pouvons donc affirmer que les agglutinines froides, bien qu'inconstantes et non spécifiques, se développent plus souvent au cours de pneumopathies à M.p.

OBSERVATIONS SIGNIFICATIVES

OBSERVATION N° I

Monsieur A... Hamar, âgé de 35 ans, sans antécédent notable, plombier, est hospitalisé le 7 janvier I970, pour une pneumopathie lobaire supérieure droite.

- Mode de début : vers le I5 décembre I969, Monsieur A.. présente un syndrome respiratoire aigu avec température à 39° et asthénie. Une dizaine de jours plus tard, devant la persistance des signes pulmonaires, le médecin traitant pratique une radioscopie qui montre un infiltrat interhilo-axillaire droit. Le malade est alors hospitalisé.

- Examen à l'entrée :

. Etat général assez bien conservé. Température à 37°5

. Toux avec expectoration muco-purulente

. L'examen pleuro-pulmonaire et le reste de l'examen somatique sont normaux.

- Examens complémentaires :

. Le vitesse de sédimentation est légèrement accélérée : I6/60

. La numération et formule globulaire est normale

. La sérologie virale s'avère négative

. Par contre, on note la présence de cryo-agglutinines

. L'examen radiographique confirme la présence à droite d'images macronodulaires de la région interhilo-axillaire.

- Evolution : un traitement anti-infectieux est entrepris. Les images radiologiques disparaissent complètement en un mois. Le malade quitte le service le 7 février I970

- Séro-diagnostic des infections à M.p.

F. C.'		I.F.G.	
1er sérum I2.I.I970	2e sérum 28.I.I970	1er sérum I2.I.I970	2e sérum 28.I.I970
1/32	1/I28	< 1/8	1/32

L'ascension du taux des anticorps est significative d'une affection récente.

OBSERVATION N° I4

Madame F... Alice, 79 ans, sans antécédent pulmonaire, est hospitalisée le 20 mai I970 pour une pneumopathie droite en foyer, avec discrète réaction pleurale et poussée d'insuffisance respiratoire aiguë.

- Mode de début : le I4 mai, apparition d'une fièvre (38°5) et d'une dyspnée. Après un traitement associant fébrifuges, diurétiques et tonicardiaques en raison de l'âge, on assiste à une légère amélioration de l'état général mais le I8 mai survient une récidive fébrile s'accompagnant de dyspnée, de toux et d'expectoration, ce qui nécessite son hospitalisation.

- Examen à l'entrée :

. Malade inconsciente, déshydratée, agitée, polypnéïque, cyanosée, ne réagissant que faiblement aux sollicitations extérieures. Température 38°8

. Examen pleuro-pulmonaire :

Polypnée importante (48/min.)

Râles humides dans les deux champs pulmonaires avec submatité et souffle tubaire de la région basse du poumon droit.

. Examen cardio-vasculaire

T.A. I4/7

Tachy-arythmie à 95

- Examens complémentaires :

. vitesse de sédimentation : 63/I00

. leucocytose (35.000) avec polynucléose

. sérologie virale négative

. présence de cryo-agglutinines

. radiographie : opacité trabéculaire de la moitié inférieure du champ pulmonaire droit ; silhouette cardiaque augmentée de volume.

- Evolution : à l'entrée dans le service, Madame F ... posait des problèmes de réanimation d'urgence ; celle-ci a été conduite en associant des antibiotiques, des analeptiques respiratoires, des tonicardiaques, de l'oxygène discontinue et un régime sans sel.

Après une semaine de traitement on assistait à une reprise de la conscience avec amélioration clinique, biologique et régression des images pulmonaires.

Cependant la persistance d'une leucocytose (23.000) et d'une température oscillante entre 37° et 38°5 oblige à poursuivre l'antibiothérapie.

Le 26 juin I970, Madame F... quitte le service, avec sur le plan radiographique une reperméabilisation correcte de la base droite et une formule à 7.400 leucocytes.

- Séro-diagnostic des infections à M.p.

F C'		I F G	
1er sérum 2I.5.I970	2e sérum 25.6.I970	1er sérum 2I.5.I970	2e sérum 25.6.I970
1/8	I/I28	I/32	I/256

L'asdension du taux des anticorps est significative d'une affection récente.

A noter cependant malgré la négativité des examens bactériologiques que la surinfection bactérienne était très probable.

OBSERVATION N° 22

Madame T... Jeanne, 69 ans, femme de ménage, sans antécédents pulmonaires, est hospitalisée le I9 janvier I970 pour une hémoptysie de moyenne abondance, survenant au décours d'une pneumopathie aiguë de la base gauche.

- Mode de début : le II/I2/I969, "congestion pulmonaire" avec toux, point de côté mais sans fièvre

Le 2/I/I970, Madame T... reprend son travail mais l'interrompt le 4 en raison de la persistance de la toux et du point de côté.

Le IO/I/I970, on note un clocher fébrile

Le I8/I/I970, hémoptysie de sang rouge, de moyenne importance, en deux temps.

- Examen à l'entrée :

. température à 37°5 ; asthénie importante et amaigrissement de 6 kgs en 1 mois.

. toux grasse ramenant une expectoration hémoptoïque

. l'examen pleuro-pulmonaire montre un foyer de râles sous crépitants à la base gauche. Le reste de l'examen somatique est normal.

- Examens complémentaires :

. la numération et formule globulaire montre une leucopénie avec lymphomonocytose

. la vitesse de sédimentation est accélérée (45/75)

. la sérologie virale s'avère négative

. il n'y a pas de cryo-agglutinines

. l'examen radio-tomographique montre sur les coupes postérieures et moyennes gauches des micronodules, un flou de l'extrême base et de la région axillaire et des trainées hilophréniques.

- Evolution : un traitement antibiotique et antihémoptoïque entraine une amélioration clinique et radiologique rapide.

Madame T... quitte le service, le I4/2/I970 avec un état général satisfaisant

- Séro-diagnostic des infections à M.p.

F C'		I F G	
1er sérum 22.I.I970	2e sérum 3.2.I970	1er sérum 22.I.I970	2e sérum 3.2.I970
I/I6	I/64	< I/8	I/I28

L'ascension du taux des anticorps est significative d'une affection récente.

CHAPITRE II

VALEUR QUALITATIVE DE NOS DEUX METHODES SEROLOGIQUES

A travers les 32 observations où le diagnostic d'infection à M.p. a été porté, on peut remarquer des variations quant aux résultats apportés par la réaction de FC' et par la technique d'I F G. Nous avons ainsi été amenés à différencier les cas où il existe une concordance entre les deux méthodes de ceux où apparaissent des résultats discordants.

I - CONCORDANCE

Nous avons retrouvé dans 25 cas des résultats concordants en R F C' et en I F G soit un pourcentage de 75,7 %. Vingt deux observations montrent une ascension significative du taux des anticorps dans les deux méthodes.

Les observations 23, 27, 30 montrent une chute significative de ce même taux.

II- DISCORDANCE

I°) Discordances cohérentes : il existe en effet des cas où les résultats apportés par les deux techniques diffèrent, mais dans lesquels le rôle de M.p. peut être affirmé. Nous en avons retrouvé 7, soit 2I,8 %.

a) Affections récentes uniquement dépistées par la technique d'I F G celle-ci est plus sensible que la R F C' (8I).

- L'observation n° 33 montre une augmentation significative de taux des anticorps inhibant la fermentation du glucose

OBSERVATION	R.F.C'		I.F.G.	
	1er sérum	2e sérum	1er sérum	2e sérum
n° 33	< 1/8	1/8	1/I28	1/5I2

Notons la légère montée des anticorps fixant le complément. Mais en aucun cas un diagnostic n'aurait pu être porté par cette seule technique.

- Les observations 24 et 29 montrent un plateau d'anticorps inhibant la fermentation du glucose, suffisamment élevé pour affirmer le diagnostic sérologique de l'affection.

OBSERVATIONS	R.F.C'		I.F.G.	
	1er sérum	2e sérum	1er sérum	2e sérum
N° 24	< 1/8	< I/8	I/2048	I/I024
N° 29	< I/8	< I/8	I/I024	I/2048

b) Affections anciennes uniquement dépistées en I.F.G. : les anticorps inhibant la fermentation du glucose, persistent plus longtemps que les anticorps fixant le complément (8'). Ceci peut être illustré par 3 de nos observations.

OBSERVATIONS	R.F.C.'		I.F.G.	
	1er sérum	2e sérum	1er sérum	2e sérum
N° 25	< I/8	< I/8	I/5I2	I/64
N° 26	< I/8	< I/8	I/5I2	I/256
N° 28	I/8	I/8	I/5I2	I/64

c) Affections très récentes diagnostiquées seulement en R F C' : les anticorps intéressés dans cette réaction apparaissent plus précocement que ceux qui inhibent la fermentation du glucose (8I). Dans l'observation n° 32 un 3e sérum aurait certainement montré une montée des anticorps I F G. Malheureusement le patient avait déjà quitté l'hôpital.

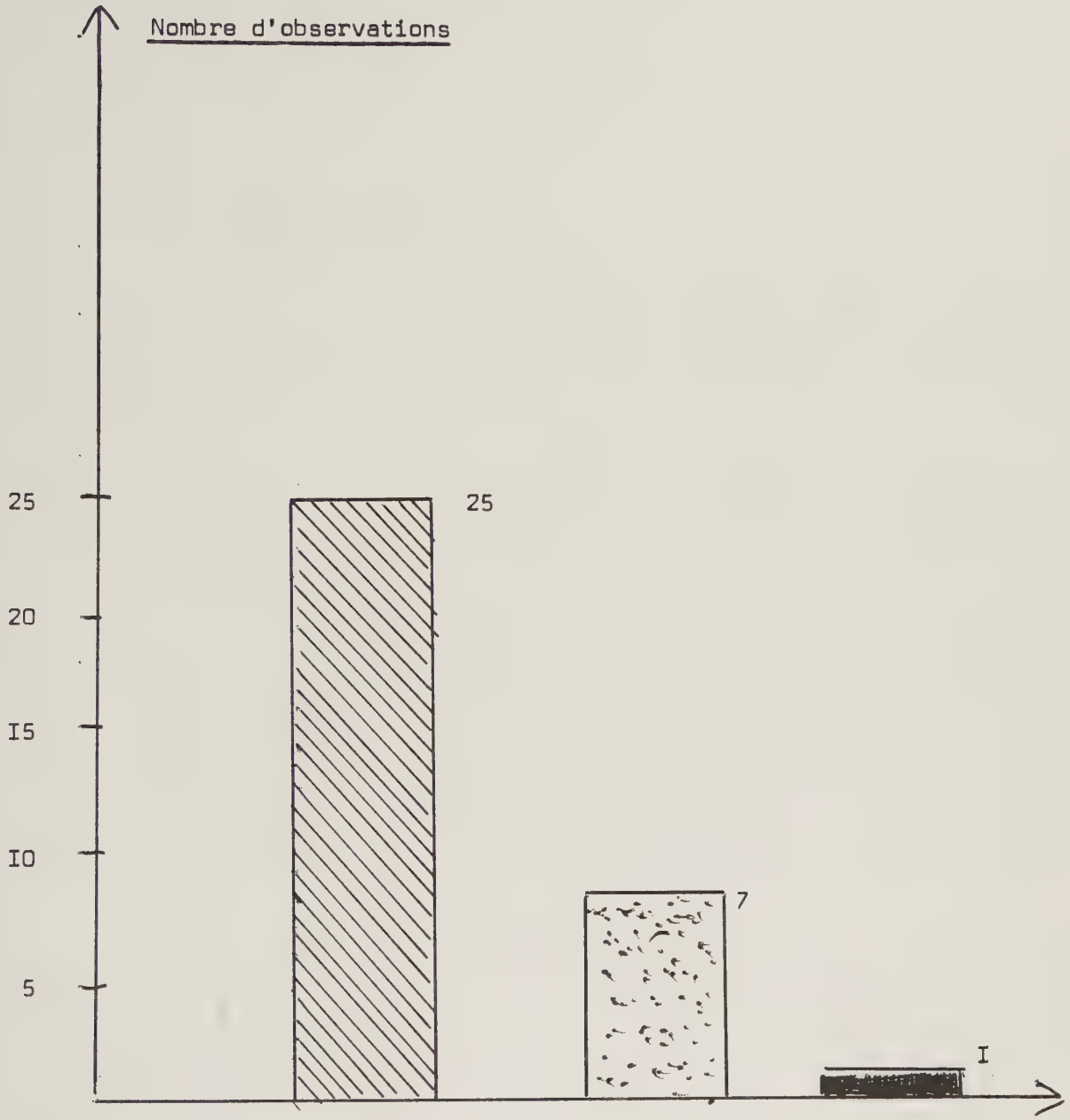
OBSERVATION	R.F.C'		I.F.G.	
	1er sérum	2e sérum	1er sérum	2e sérum
N° 32	< 1/8	I/32	< I/8	< I/8

2°) Discordances incohérentes

Nous avons relevé un seul cas d'incohérence apparente du diagnostic sérologique.

OBSERVATION	R.F.C'		I.F.G.	
	1er sérum	2e sérum	1er sérum	2e sérum
N° 3I	I/64	I/8	< I/8	< I/8

La chute significative du taux des anticorps fixant le complément aurait pu permettre de porter le diagnostic d'affection ancienne par cette seule technique. La réaction d'I F G reste quant à elle, négative. Du point de vue clinique le tableau évoque une virose respiratoire. Mais la sérologie virale reste négative. Par contre les agglutinines froides sont présentes.


Nombre d'observations
25
20
I5
IO
5
25
7
I
Concordances
Discordances cohérentes
Discordanees incohérentes

III - COMMENTAIRES

De manière générale, le patient réagit à l'atteinte par M.p. en développant une réaction immunologique globale qui aboutit à la disparition rapide de l'agent infectieux et permet le sérodiagnostic.

Cependant des réponses anticorpales différentes peuvent être révélées par la sérologie, et il est aujourd'hui démontré que la R F C* et la technique d'I F G ne font pas appel à la même catégorie d'immunoglobulines.

Les anticorps déviant le complément, sont d'apparition plus précoce que ceux qui inhibent la fermentation du glucose ; ils sont décelables dès le 7e jour de la maladie et atteignent parfois déjà leur titre maximum. Ils ne vont persister que quelques semaines ou mois (I2). Leur caractère transitoire explique que la déviation du complément ne puisse être utilisée pour déceler les infections anciennes.

L'ascension des anticorps inhibant la croissance est limitée et progressive ; ils atteignent leur maximum 1 à 6 mois après le début de l'infection, mais ils sont plus durables et vont persister après la disparition des anticorps fixant le complément.

Certains auteurs se sont attachés à la caractérisation des immunoglobulines décelées. SCHMIDT et coll. (I07) et FERNALD et coll. (5I) ont démontré que l'activité fixant le complément était associée aux fractions IgM (I9 S) et IgG (7 S) des globulines sériques, mais le titre des IgM globulines est nettement plus élevé dans les sérums précoces ; il va décliner au cours des semaines qui suivent pendant que le titre d'IgG augmente.

Les anticorps inhibant la croissance sont présents dans les IgM, puis ensuite plus largement dans les IgG,et il est démontré que les fractions IgA participent de façon significative à leur expression pendant la convalescence, alors que ces fractions ne contiennent pas ou peu d'anticorps déviant le complément. Donc seule, les anticorps inhibant la croissance ont été retrouvés de façon significative dans les trois classes d'immunoglobulines sériques IgM, IgA et IgG, dont l'élaboration se succède dans les semaines qui suivent l'infection.

Chaque technique sérologique donne une réponse dont le schéma est fonction de son habilité à déceler les différentes immunoglobulines et l'apparition de celles-ci dans le temps. C'est ainsi que l'on observe des divergences dans les réponses sérologiques en R F C' et I F G , d'abord au tout début de l'infection, puis dans sa phase terminale. Ces divergences peuvent être qualifiées de cohérentes. En ce qui concerne l'observation n° 3I il faut admettre que ce patient a développé une réponse immunologique incomplète.

CONCLUSION

L'étude des différentes techniques sérologiques de diagnostic d'infections à Mycoplasma pneumoniae nous a permis de choisir la réaction de fixation du complément pour é valuer l'endémie mycoplasmique sur deux échantillons significatifs de la population de notre région.

- D'une part, 100 sérums prélevés par le Centre Régional de Transfusion Sanguine.
- D'autre part, 100 sérums de sujets hospitalisés dans le service de Pneumophtisiologie du Professeur MIGUERES, pour des affections respiratoires aiguës.

Cette étude a permis de montrer que ces malades ont des taux d'anticorps nettement supérieurs à ceux des donneurs de sang pris au hasard. Elle permet en outre de chiffrer le taux d'immunisation de la population de notre région aux alentours de 25 %.

Dans un deuxième temps, nous avons associé à la réaction de FC', la technique d'inhibition de fermentation du glucose pour apprécier le rôle de M.p. dans le déterminisme des pneumopathies

aiguës. Les sérums de IOO patients hospitalisés à cette occasion dans les services de pneumologie de l'hôpital de Purpan (clinique pneumo-phtisiologique du Pr DELAUDE, Service du Pr MIGUERES) ont été étudiés.

Dans 32 cas (32 %) nous avons pu porter le diagnostic de Maladie de EATON.

Ce chiffre affirme l'importance de M.p. à l'origine des pneumopathies aiguës dans la région toulousaine, juste après les Myxovirus dont le rôle a été démontré dans 4I % des cas dans le même lot de patients.

Ceci nous amène à préconiser, en France, la vaccination anti-M.p., telle qu'elle est appliquée aux U.S.A. et avec les mêmes indications que le vaccin anti-grippal.

Notons, par ailleurs, que la recherche des cryoagglutinines est à même de fournir un bon élément d'orientation (retrouvées dans 55 % des cas).

La comparaison entre les deux techniques sérologiques que nous avions choisies permet de confirmer la valeur de la réaction de fixation du complément dans le diagnostic d'affections récentes, mais aussi d'affirmer la plus grande sensibilité de la technique d'inhibition de fermentation du glucose.

L'association de ces deux méthodes, par ailleurs parfaitement reproductibles, permet une meilleure interprétation du diagnostic sérologique d'affections respiratoires à Mycoplasma pneumoniae.

BIBLIOGRAPHIE

I. ALEXANDER E.R., FOY H.M., KENNY G.E., KRONMALL R.A., Mc MAHAN R., CLARKE E.R., Mc COLL W.A. et GRAYSTON J.T.

Pneumoniae due to Mycoplasma pneumoniae. Its incidence in the membership of a co-operative medical group.

New Engl. J. Med., I966, 275, I3I-I36

2. ANDREWS B.E.

Human infections with Mycoplasma pneumoniae (Eaton's agent)
Proc. Roy. Soc. Med. I965, 58, 80-82

3. ARAI S., YOSHIDA K., IZAWA A., KUMAGAI K. et ISHIDA N.

Effects of antibiotics on growth of Mycoplasma pneumoniae MAC.
J. Antibiot. A., Jap. I966, I9 II8-I20

4. BAERNSTEIN H.D., TREVISANI E., AXTELLS et QUILLIGAN J.J.Jr.

Mycoplasma pneumoniae (Eaton atypical pneumoniae agent) in Children's respiratory infections.
J. Pediat. I965, 66, 829-837

5. BALASSANIAN N. et ROBBINS F.C.

Mycoplasma pneumoniae infections in families
New Engl. J. Med. I967, 277 7I9-725

6. BASSERMANN F.J.

Verkommen and Bedeutung von Mycoplasmataceen (P.P.L.O.) in menschlichen Atemtzᵃkt
Praxis Pneumol. I966, 20, 3I7-324

7. BAYLEY J.S., CLARK H.W., FELTS W.R., FOWLER R.C., BROWN T.McP.

Antigenic properties of PPLO from tissue cell cultures and the human genital area.
J. Bact. I96I, 82, 542-547

8. BAYLEY J.S., CLARK H.W., FELTS W.R., BROWN T. McP.

Growth inhibitory properties of mycoplasma antibody
J. Bact. I963, 86, I47

9. BECKMANN B.L., KENNY G.E.

Immunochemical analysis of serologically active lipids of Mycoplasma pneumoniae
J. Bact. I968, 96, II7I-II80

IO. BIBERFELD G., JOHNSSON T., JONSSON J.

Studies on Mycoplasma pneumoniae infection in Sweden
Acta Path. and Microbiol. Scandinav. I965, 63, 469-475

II. Biology of the pleuro-pneumonia like organism
Ann. N.Y. Acad. Sci. I960, 79, 305-758

I2. BOSSAHRD Sylvie

Valeur de la réaction de fixation du complément pour le détection des infections à Mycoplasma pneumoniae
Thèse I968 - Lyon

I3. BOYDEN S.V.

The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera
J. Exp. I95I, 93, I07-I20

I4. BRADSTREET CMP, TAYLOR CED

Technique of complement fixation test applicable to the diagnostic of virus diseases
Monthly bull. Min. Health and Publ. Health lab . Serv. 2I I962, 96, I04

I5. CANNEL H., CHURCHER G.M., and MILTON - THOMPSON G.J.

Stevens Johnson Syndrome associated with Mycoplasma pneumoniae infections
Br. J. Derm. I969, 8I, I96

I6. CHANOCK R.M., COOK M.K., FOX HH., PARROT R.H., HEUBNER R.J.
Serologic evidence of infection with Eaton agent in lower respiratory illness in childhood
New Engl. J. Med., I960, 262, 648-654

I7. CHANOCK R.M., FOX HH., JAMES W.D., BLOOM H.H., MUFSON M.A.

Growth of laboratory and naturally occuring strains of Eaton agent in monkey kidney tissue culture
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. I960, I05, 37I

I8. CHANOCK R.M., MUFSON M.A., BLOOM H.H., JAMES W.D., FOX H.H., KINGSTON J.R.

Eaton agent pneumoniae. I. Ecology of infection in a military recruit population
J. Am. Med. Assoc. I96I, 47, 887-890

I9. CHANOCK R.M., HAYFLICK L., BARILE M.F.

Growth on artificial medium of an agent associated with atypical pneumoniae and its identification as e PPLO
Proc. Natl. Acad. Sci., I962, 48 4I-49

20. CHANOCK R.M., JAMES W.D., FOX H.H., TURNER H.C., MUFSON M.A. HAYFLICK L.

Growth of Eaton PPLO in Broth and preparation of a complement fixing antigen.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., I962, II0, 884-889

21. CHANOCK R.M., MUFSON M.A., JAMES W.D., FOX H.H., BLOOM H.H.,

Recovery of PPLO of a typical pneumonia on artificial ager medium
Proc. Soc. Exptl. Biol. med., 1962, 110, 543-547

22. CHANOCK R.M., MUFSON M.A., SOMERSON N.L., COUCH R.B.

Role of Mycoplasma (PPLO) in human respiratory disease
Amer. Rev. Resp. Dis., 1963, 88, 218

23. CHANOCK R.M.

Mycoplasma infection of man
New England J. Med., 1965, 273, 1199-1206
et 1257-1264

24. CLYDE W.A., DENNY F.W., DINGLE J.H.

J. Lab. Clin. Med., 1960, 56, 799-804

25. CLYDE W.A., DENNY F.W., DINGLE J.H.

Fluorescent stainable antibodies to the Eaton agent in human primary atypical pneumonia transmission studies
J. Clin. Invest., 1961, 40, 1638, 47

26. CLYDE W.A.

Hemolysis in identifying Eaton's pleuro-pneumonia like organism
Science 1963, 139, 55

27. CLYDE W.A.

Mycoplasma species identification based upon growth inhibition by specific antisera
J. Immunology, 1964, 92, 958-965

28. CONANT R.M., SOMERSON N.L., SENTERFIT L.B.

Immunodiffusion reactions between human and Mycoplasma pneumoniae
Proc. Soc. Exptl. Biol. med, 1968, 129, 401-407

29. COOK M.K., CHANOCK R.M., FOX H.H., HUEBNER R.J., BUESCHER E.M., JOHNSON R.T.

Role of Eaton agent in disease of lower respiratory tract. Evidence for infection in adults
British Med. J., I960, 1, 905-9II

30. COPPS S.C., ALLEN V.D., SVELTMANN S., EVANS A.S.

A community outbreack of Mycoplasma pneumoniae
J.A.M.A., I968, 204, I23-I28

3I. COUCH T.R., CATE M.D., CHANOCK R.M.

Infection with artificially propagated Eaton agent (Mycoplasma pneumoniae)
J.A.M.A., I964, I87, I46, I5I

32. DACIE J.V.

The Haemolytic Anaemiae, I962, 2e édition, 343 and 494
Churchill, London

33. DEL GUIDICE R.A., PAVIA R.

Hemadsorption of Mycoplasma pneumoniae and its inhibition with sera from patients with primary atypical pneumonia
Bact. proc. I964, 7I

34. DOWDLE W.R., ROBINSON R.Q.

An indirect hemagglutination test for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infections
Proc. Soc. Exptl. Biol Med. I964, II6, 947-950

35. DOWDLE W.R., STEWART J.T., HEYWARD and ROBINSON R.Q.

Mycoplasma pneumoniae infection in a children's population = a five year study.
Am. J. Epidemiol. I967, 85, I37

36. EATON M.D., MEIKLEJOHN G., VAN HERICK W.

Studies on the etiology of primary atypical pneumonia
A filterable agent transmissible to cotton rats, hamsters and chick embryos
J. Exptl. Med., I944, 79, 649-668

37. EATON M.D.

Action of aureomycin and chloromycetin on viruses of primary atypical pneumonia
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1950, 73, 24-26

38. EATON M.D., LIU C.

Studies on sensitivity to streptomycin of the atypical pneumonia agent
J. Bacteriology, 1957, 74, 784-787

39. EBISAWA I., NAKAMURA S., KITAMOTO O., SATO T.

Preparation and Freez-drying of High titered Mycoplasma pneumoniae complement fixing antigen
Japan J. Exp. Med. 1968, 38, 2, 119-122

40. EDWARD D.G.

An investigation of the biological properties of organisms of the pleuro pneumonia group, with suggestions regarding the identification of strains.
J. Gen. Microbiol. 1950, 4, 311-329

41. EDWARD D.G.

The pleuropneumonia group of organisms = a review together with some new observations
J. Gen. Microbio. 1954, 10, 27-64

42. EDWARD D.G., and FITZGERALD W.A.

Inhibition of growth of PPLO by antibody
J. Path. Bact. 1954, 68, 23-30

43. EDWARD D.G. and FREUNDT E.A.

The classification and nomenclature of organisms of the pleuropneumonia like group
J. Gen. Microbiol. 1956, 14, 197-207

44. ENG J.

Studies on the complement fixation test with Mycoplasma pneumoniae antigen. I : Production of antigen
Acta. Path and Microbiol. Scandinav. 1967, 71, 79-88

45. EVANS A.S., BROBST M.S.

Bronchitis, pneumonitis and pneumonia in University of Wisconsin students
New England, J. Med., I96I, 265, 40I-407

46. EVANS A.S., ALLEN V., SVELTMANN S.

Mycoplasma pneumoniae infections in University of Wisconsin students
Am. Rev. od Respir. Dis. I967, 96, 237-243

47. FREIZI T. and TAYLOR-ROBINSON D.

Cold agglutinin anti-I and Mycoplasma pneumoniae
Immunology - I967, I3, 405-409

48. FEIZI T., Mc LEAN H., SOMMERVILLE R.G., et SELWYN S.G.

Studies on an Epidemie of Respiratory Disease caused by Mycoplasma pneumoniae
Brit. med., I967, 1, 457-460

49. FELDMAN H.A., SUHS R.H.

Serologic epidemiologic studies with M. pneumoniae.I demonstration of an hemagglutinin and its inhibition by antibody
Am. J. Epid., I966, 83, 345-356

50. FERNALD G.W., WALLACE A.C., DENNY F.

Factors influencing growth inhibition of Mycoplasma pneumoniae by immune sera
Proc. Soc. Exptl. Biol. med. I967, I26, I6I-I66

5I. FERNALD G.W., CLYDE W.A. jr, DENNY F.

Nature of the immune response to Mycoplasma pneumoniae
J. immunol. I967, 98, I028, I38

52. FORSYTHE B.R., HENRY M.D., BLOOM H.H., JOHNSON K.M., CHANOCK R.M.

Etiology of primary atypical pneumonia in a military population
J.A.M.A., I965, I9I, 364-368

53. FOY H.M., GRAYSTON J.T., KENNY G.E., ALEXANDER E.R., MAC MAHAN R.

Epidemiology of Mycoplasma pneumoniae infections in families
The J. of the Am. Med. Assoc., I966, I97, 859-866

54. FREUNDT E.A.

The Mycoplasmatacae = Morphology, biology and taxonomy
Aerhuns. Stiftsbogtrykkerie, Copenhagen, I958
(Engl. Trans. by H. COWAN)

55. FREUNDT E.A.

Report presented at WHO meeting on Mycoplasma
Leiden, Holland, I962

56. GLEZEN W.P., THORNBURG G., CHIN D.Y., WENNER H.A.

Significance of Mycoplasma infections in children with respiratory disease
Pediatrics, I967, 39, 5I6-524

57. GOODBURN G.M., MARMION B.P.

A study of the properties of Eaton's primary atypical pneumonia organism
J. Gen. Microb. I962, 29, 27I

58. GOODBURN G.M., MARMION B.P., KENDALL E.J.C.

Infection with Eaton's primary atypical pneumoniae agent in England
Brit. Med. J., I963, 1, I266

59. GRAYSON J.T., ALEXANDER E.R., KENNY G.A., CLARKE E.R., FREMONT J.C., Mc COLL W.A.

Mycoplasma pneumoniae infections = clinical and epidemiologic studies
The J. of Am. Med. Assoc. I965, I9I, 369-374

60. GRIFFIN J.P., CRAWFORD Y.E.

Mycoplasma pneumoniae in primary atypical pneumonia
J.A.M.A. I965, I93, IOII-IOI6

6I. HAYFLICK L.

Tissues cultures and Mycoplasmas
Tex. Rep. Biol. Med. I965, 23, 285-303

62. HAYFLICK L. and CHANCCK R.M.

Mycoplasma species of man
Bact. Rev. I965, 29, I85

63. HUIJMANS-EVERS A.G.M., RUYS A.C.

Microorganisms of the pleuropneumonia group (family of mycoplasmatacae) in man Antonie van leeuwenhoek
J. Microbiol. Serol. I956, 22, 377

64. JANSSON E.

Preparation of complement - fixing antigen for routine use in diagnosis of Eaton pneumonia
J. Clin. path. I964, I7, 458-460

65. JAO R.L., RUBENIS M., JACKSON G.G.

Isolation of Mycoplasma pneumoniae from adults with respiratory infections
Arch. Intern. Med. USA I966, II7, 520-526

66. JENSEN K.E.

Measurement of growth inhibiting antibody for Mycoplasma pneumoniae
J. Bacteriol. I963, 86, I349-I350

67. JENSEN K.J., SENTERFIT L.B., SCULLY W.E., CONWAY T.J., WEST R.F., DRUMMY W.W.

Mycoplasma pneumoniae infections in children. An epidemiologic appraisal in families treated with oxytetracycline
Amer. J. Epidemiol. I967, 86, 4I9-432

68. JOHN J.T., STAHL M., FULGINITI V.A.

Cumulative hemagglutination by Mycoplasma pneumoniae and other agglutinies
J. Bacteriol. 1966, 92, 1002-1004

69. JOHN J.T., STALH M., FULGINITI V.A.

Direct hemagglutination by Mycoplasma pneumoniae and its inhibition by immune serum
J. of Med. Microb. 1969, 2, 131-135

70. KENDE M.

Antibody response of animals to Mycoplasma pneumoniae measured by latex agglutination
Applied Microb. 1969, 17, 275-279

71. KENNY G.E., GRAYSTON J.T.

Eaton pleuro pneumoniae like organism (Mycoplasma pneumoniae) complement fixing antigen = extraction with organic solvents
J. Immunol. 1965, 95, 19

72. KEER K.M., MASCOLI C.C., OLSON N.O., CAMPBELL A.

Rapid specific agglutination of Eaton Agent (Mycoplasma pneumoniae)
J. Bact. 1964, 87, 478-479

73. KITAMOTO O., NAKAMURA S., EBISAWA I., SATO T.

Mycoplasma pneumoniae infection in atypical pneumonia in the Tokio area
Japan J. Exptl. Med. 1966, 36, 291-299

74. KLIENEBERGER-NOBEL E.

Pleuropneumonia - like organisms (PPLO)-Mycoplasmatacae
Acad. Press. London and New York, 1962

75. KRAYBILL W.H. and CRAWFORD Y.E.

A selective medium and color test for mycoplasma pneumoniae
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 1965, 118, 965-970

76. KREIS B. et LE QUAN

Bronchopneumopathies virales et de "type viral"
E.M.C., Poumons, 1969, 6003, CI D

77. LARIN N.M., SAXBY N.V., WILLIAMSON G.M., BUGGEY D., KENWRIGHT N.S.

In vitro susceptibility of Mycoplasma pneumoniae to tetracyclines
Amer. Soc. of Microbiol. 1967, 680-686

78. LARIN N.M., SAXBY N.V., BUGGEY D.

Quantitative aspects of Mycoplasma pneumoniae cell relationships in cultures of lung diploïd fibroblasts
J. Hyg. Camb. 1969, 67, 375-384

79. LEMCKE R.M., MARMION B.P., PLACKETTP

Immunochemical analysis of Mycoplasma pneumoniae
Ann. N Y - Acad. Sci. 1967, 143, 691-702

80. LENNETTE E.H.

Diagnostic procedures for virus and rickettsial diseases
Amer. Public Health Association (ed by E.H. Lennette and N.J. Schmidt) New-York, 1964

81. LE PORS Marie-José

Pratique et valeur du test d'inhibition métabolique de la fermentation du glucose pour le diagnostic sérologique des infections à Mycoplasma pneumoniae
Thèse 1970 - Paris

82. LIND K.

Isolation of Mycoplasma pneumoniae (Eaton agent) from patients with primary atypical pneumonia
Acta Path and Microbiol. Scand. 1966, 66, 124-134

83. LIU C.

Studies on primary atypical pneumonia
I = localisation, isolation and cultivation of a virus in chick embryos
J. Exptl. Med. 1957, 106, 455-467

84. LIU C., BATON M.D., HEYL J.T.

Studies on primary atypical pneumonia. Observations concerning the development and immunological characteristics of antibody in patients
J. Exptl. Med. 1959, 109, 545-556

85. LIU C.

Studies on primary atypical pneumonia
III = A factor in normal serum which enhances the reaction between PAP virus and convalescent serum
J. Exptl. Med. 1961, 113, 111-123

86. LYELL A., GORDON A.M., DICK H.M., SOMMERVILLE R.G.

Mycoplasma and Erythema multiform
The Lancet 1967, II,1116-1118

87. Mc GEE Z.A., ROGUL M., FALKOW S., WITTLER R.G.

The relationship of Mycoplasma pneumoniae (Eaton Agent) to Streptococcus M.G. = application of genetic tests to determine relatedness of L formes and PPLO to bacteries
Proc. Ntl. Acad. Sci. 1965, 54, 457-461

88. MAISEL J.C., BABBIT L.H., JOH T.J.

Fatal Mycoplasma pneumoniae infection with isolation of organisms from lung
The J. of the Am. Med. Assoc. 1967, 202, 287-290

89. MANCHEE R.J. and TAYLOR-ROBINSON D.

Haemadsorption and hemagglutination by Mycoplasma
J. Gen. Microbiol. 1968, 50, 465-478

90. MANCHEE R.J. and TAYLOR-ROBINSON D.

Utilization of an uraminic acid receptors by Mycoplasmas
J. of Bacteriol. I969, 98, 9I4-9I9

9I. MARMION B.P., GOODBURN G.M.

Brit. Med. J. I960, I, II37-II47

92. MARMION B.P., GOODBURN G.M.

Effect of an organic gold salt on Eaton's primary atypical pneumoniae organisms and other observations
Nature, I96I, I89, 247

93. MARMION B.P., HERS J.F.

Observation on Eaton primary atypical pneumonia agent and analogous problems in animals
Am. Rev. Resp. Dis. I963, 88, I98-2II

94. MEIKLEJOHN G., THALMAN W.G., WALIGORA D.J., KEMPE C.H., LENNETTE E.M.

Chemotherapy of primary atypical pneumonia
J.A.M.A. I954, I54, 553-557

95. MUFSON M.A., SANDERS V., WOOD S.C., CHANOCK R.M.

Primary atypical pneumonia due to Mycoplasma pneumoniae (Eaton Agent) - Report of a case with a residual pleural asnormality
New Engl. J. of Med. I963, 268, II09-IIII

96. MUFSON M.A., CHANG V., GILL V., WOOD S.C., ROMANSKY M.J. and CHANOCK R.M.

The role of viruses, mycoplasmas and bacteria in acute pneumonia in civilian adults
Am. J. Epidemiol. I967, 86, 525-544

97. OFFENHAUER R.

Uber das Vorkommen Von Komplement bindenden Antikörpen gegen Mycoplasma pneumoniae in der gesunden Bevölkerung
Z - Immunoforsch - 1967, 133, 144-152

98. OLSON N.O., SHELTON D.C., MUNRO D.A.

Infections synovitis control by medication - Effect of strain differences and pleuropneumonia - like organisms
Amer. J. Vet. Res. 1957, 18, 735-739

99. PEROL Y.

Mycoplasma pneumoniae - Son rôle en pathologie humaine "Progrès en pathologie infectieuse". Ed. Medicales Flammarion, 1967, II, 36

100. PETERSON O.L., HAM T.H., FINLAND M.

Cold agglutinins in primary atypical pneumoniae
Science, 1943, 97, 167-168

101. PLACKETT P., MARMION B.P., SHAW E.J., LEMCKE R.M.

Immunochemical analysis of Mycoplasma pneumoniae.
3=Separation and chemical identification of serologically active lipids
Aust. J. Exptl. Biol. med. Sci. 1967, 47, 171-195

102. PRESCOTT B., SOBESLAVSKY O., CALDES G., CHANOCK R.M.

Isolation and characterization of fractions of myco-plasma pneumoniae
I = chemical and chromatographic separation
J. of Bacteriol. 1966, 91, 2117-2124

103. PRESCOTT B., SOBESLAVSKY O., CALDES G., CHANOCK R.M.

Isolation and characterization of fractions of myco-plasma pneumoniae
II = Antigenicity and immunogenicity
J. of Bacteriol. 1966, 91, 2126-2138

I04. PRESCOTT B., CALDES G., JAMES W.D., CHANOK R.M.

Phospholipid hapten of Mycoplasma pneumoniae
Ann. N.Y. Acad. Sci. I967, I43, 497-500

I05. PURCELL R.H., CHANOCK R.M.

Role of Mycoplasmas in Human Respiratory Disease
Med. Clin. North Amer. I967, 5I, 79I-802

I06. RYKNER G., BONNAFOUS J., MANIGAND G.

Serologie des infections à Mycoplasma pneumoniae par le test d'inhibition métabolique. Etude de II4 paires de sérums provenant de sujets atteints de pneumopathie.
Semaine des Hôpitaux, I970, 22, I498-I503

I07. SCHMIDT N.J., LENNETTE E.H., DENNIS J., GEE P.S.

On the nature of complement fixing antibodies to mycoplasma pneumoniae
J. of Immunol. I966, 97, 95

I08. SENTERFIT L.B. and JENSEN K.E.

Antimetabolic antibodies to Mycoplasma pneumoniae measured by tetrazolium reduction inhibition
P.S.E.B.M. I966, I22, 786-790

I09. SEVER J.L.

Application of a microtechnique to viral serological investigations
J. Immun. I962, 88, 320

II0. SHEPARD M.C. et CALVY G.L.

Current concepts = The role of Mycoplasma pneumoniae (PPLO) in Human Disease
New England J. Med. I965, 272, 848-85I

III. SIEBER O.F., JOHN T.J., FULGINITI V.A., OVERHOLT E.C.

Stevens-Johnson Syndrome associated with Mycoplasma pneumoniae infection
J.A.M.A. I967, 200, 79-8I

II2. SIEGENTHALER W.

Mycoplasma - Infektionen des Respirationstraktes
Praxis, I968, 57, I37-I42

II3. SLOTKIN R.I., CLYDE W.A., DENNY F.W.

The effect of antibiotics on Mycoplasma pneumoniae in vitro and in vivo
Am. J. of Epidemiol. I967 , 86, 225-237

II4. SMITH P.F.

Comparative physiology of pleuropneumonia - like and L - type organisms
Bacterio. Rev. I964, 28, 97-I25

II5. SMITH C.B., ALFORD R.H., CHANOCK R.M.

Volonteer studies with Mycoplasma pneumoniae. Spectrum of illness produced and protective effect of inactivated vaccin
N.Y. Acad. Sie. 2nd Conf. on Biol. on Mycoplasma I966

II6. SMITH C.B. Mc GUINNISS M.H., SCHMIDT P.J.

Changes in erythrocyre - I agglutinogen and anti I agglutinins during Mycoplasma pneumoniae infection in man
J. of Immunol. I967, 99, 333-338

II7. SOBESLAVSKY O., SYRUCEK L. BRUCKOVA M. and ABRAHAMOVIC M.

The etiological role of Mycoplasma pneumoniae in otitis media in children
Pediatrics, I965, 35, 652-657

II8. SOBESLAVSKY O., PRESCOTT B., JAMES W.D., CHANOCK R.M.

Isolation and characterization of fractions of Mycoplasma pneumoniae
II = Antigenicity and Immunogenicity
J. Bact. I966, 9I, 2I26-2I38

II9. SOBESLAVSKY O., PRESCOTT B., JAMES W.D., CHANOCK R.M.

Isolation and immunogenetic activities of different fractions of Mycoplasma pneumoniae
Ann. N.Y. Acad. Sci. I967, I43, 682-690

I20. SOBESLAVSKY O., PRESCOTT B., CHANOCK R.M.

Adsorption of Mycoplasma pneumoniae to neuraminic acid receptors of various cells and possible role in virulence
J. Bact. I968, 96, 695-705

I2I. SOMERSON N.L., TAYLOR-ROBINSON D., CHANOCK R.M.

Hemolysin production as an aid in the identification and quantitation of Eaton agent
Am. J. Hygiene I963, 77, I22-I28

I22. SOMERSON N., PURCELL R.H., TAYLOR-ROBINSON D., CHANOCK R.M.

Hemolysin of Mycoplasma pneumoniae
J. Bact. I965, 89, 8I3-8I8

I23. SOMERSON N.L., WALLS B.E., CHANOCK R.M.

Hemolysin of Pycoplasma pneumoniae : tentative of identification as a peroxyde
National Inst. of Allergy and Inf. Dis. I965, I50, (Nº 3693) 226-228

I24. SOMERSON N.L., JAMES W.D., WALLS B.E., CHANOCK R.M.

Growth of Mycoplasma pneumoniae on a glass surface
Ann. N.Y. Acad. Sci. I967, I48, 384-389

I25. SOULA F.B.

Considérations cliniques et biologiques sur les viroses respiratoires de l'adulte observées en milieu hospitalier toulousain
Thèse I969 - Toulouse

I26. STRAVITSKY A.B.

Micromethodes for the study of proteins and antibodies II specific applications of hemagglutination and hemagglutination-inhibition reactions with tannic acid and protein-treated red blood cells.
J. Immunol. I954, 72, 360

I27. STEINBERG P., WHITE R.J., FULD S.L., GUTEKUNST R.R., CHANOCK R.M., SENTERFIT L.B.

Ecology of Mycoplasma pneumoniae infections in marine recruits at Parris Island South Caroline
Am. J. Epidem. I968, 89, 62-73

I28. STEINBRUCHEL A.R.

Mycoplasma pneumoniae infekte
Praxis, I968, 57, 697-702

I29. SUSMAN S.J., MAGOFFIN R.L., LENNETTE E.H., SCHIEBLE J

Cold agglutinins, Eaton Agent and Respiratory infections of children
Pediatrics I966, 38, 57I-577

I30. TAYLOR-ROBINSON D., SOMERSON N.L., TURNER H.C., CHANOCK R.M.

Serological relationship among human Mycoplasmas as shown by complement fixation and gel diffusion
J. Bact. I965, 85, I26I-I273

I3I. TAYLOR-ROBINSON D., SOBESLAVSKY O., CHANOCK R.M.

Relationchip of Mycoplasma pneumoniae to other human Mycoplasma species studied by gel diffusion
J. Bact. I965, 90, I432-I437

I32. TAYLOR-ROBINSON D., PURCELL R.H., WONG D.C., CHANOCK R.M.

A colour test for measurement of antibody to certain Mycoplasma species based upon the inhibition of acid production
J. Hyg. Camb. I966, 64, 9I-I04

I33. TAYLOR-ROBINSON D., SHIRAI A., SOBESLAVSKY O., CHANOCK R.M.

Serologic response to Mycoplasma pneumoniae infections II Significence of antibody measured by different techniques
Amer. J. of Epid. I966, 84, I-I3

I34. TAYLOR-ROBINSON D., SOBESLAVSKY O., JENSEN K.E., SENTERFIT L.B., CHANOCK R.M.

Serologic response to Mycoplasma pneumoniae infection
Amer. J. Epidemiol. I966, 83, 287-298

I35. TAYLOR-ROBINSON D., MANCHEE R.J.

Adherence of Mycoplasma to glass and plastic
J. Bact. I967, 94, I78I-I782

I36. TAYLOR-ROBINSON D., MANCHEE R.J.

Spermadsorption and spermagglutination by Mycoplasmas
Nature (London) I967, 215, 484-487

I37. TAYLOR-ROBINSON D., MANCHEE R.J.

Novel approach to studying relationships between Mycoplasmas and tissu culture celle
Nature (London) I967, 216, I306-I307

I38. THIVOLET J., FRIES D., KRATCHKO A.

Revue Lyon Méd. I96I, IO, I027-I036

I39. THIVOLET J., SOHIER R., PICARD M., BLANC G.

Application de la méthode d'immunofluorescence au diagnostic de la pneumopathie due au Mycoplasma de Eaton
Aun. Inst. Pasteur I963, I05, 749-756

I40. THOMAS L., MIRICK G.S., CURNEN E.C., ZIEGLER J.E., HORSFALL F.L.

Serological reactions with an indifferent streptococcus in primary atypical pneumonia
Science, I943, 98, 566-568

I4I. THOMAS L., MIRICK G.S., CURNEN E.C., ZIEGLER J.E., HORSFALL F.L.

Studies on primary atypical pneumonia II = observations concerning the relationship of a non hemolytic streptococcus in the disease
J. Clin. Inv. I945, 24, 227

I42. TURNER J.C.

Development of cold agglutinins in atypical pneumonia
Nature I943, I5I, 4I9

I43. TURNER J.A.P., BURCHAK E.C., BAUNATYNE R.M., FLEMING P.C.
The protean manifestations of Mycoplasma infections in childhodd
The Canadian Medical Association Journal, I968, 99, 633-637

I44. VAN DER VEEN J., VAN NUNEN M.C.J.

Role of Mycoplasma pneumoniae in acute respiratory disease in a military population
The Am. J. of Hyg. I963, 78, 293-30I

I45. VAN HERICK W., EATON M.D.

An unidentified pleuro pneumonia - like organism isolated during passages in chick embryos
J. Bact. I945, 50, 47-55

I46. VOORS A.W. and STEWART G.T.

Bioathematical analysis of Mycoplasma infection in marine recruits
Am. Rev. of Reps. I968, 97, 5I5-523

I47. WARREN J.

Observations of some biological characteristics of organisms of the pleuropneumoniae group
J. Bact. I942, 43, 2II-228

I48. WEINER A.S., UNGER L.J., COHEN L., FELDMAN J.

Ann. Intern. Med. I956, 44, 22I

I49. WITZLEB W., SPROSSIG M., AUGER G., HEIDLER S.

Erkranhungen des Respirationstraktes durch Mycoplasma pneumoniae
Deutsche Med. Wschr. I966, 9I, 429-433

Vu et Permis d'imprimer

Toulouse, le 8 Octobre 1970

LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE

L. LARENG

LE PRESIDENT DE THESE

Mme ENJALBERT

Vu et Permis d'imprimer

TOULOUSE, le 8 octobre 1970

Le Président de l'Université

Professeur LARENG